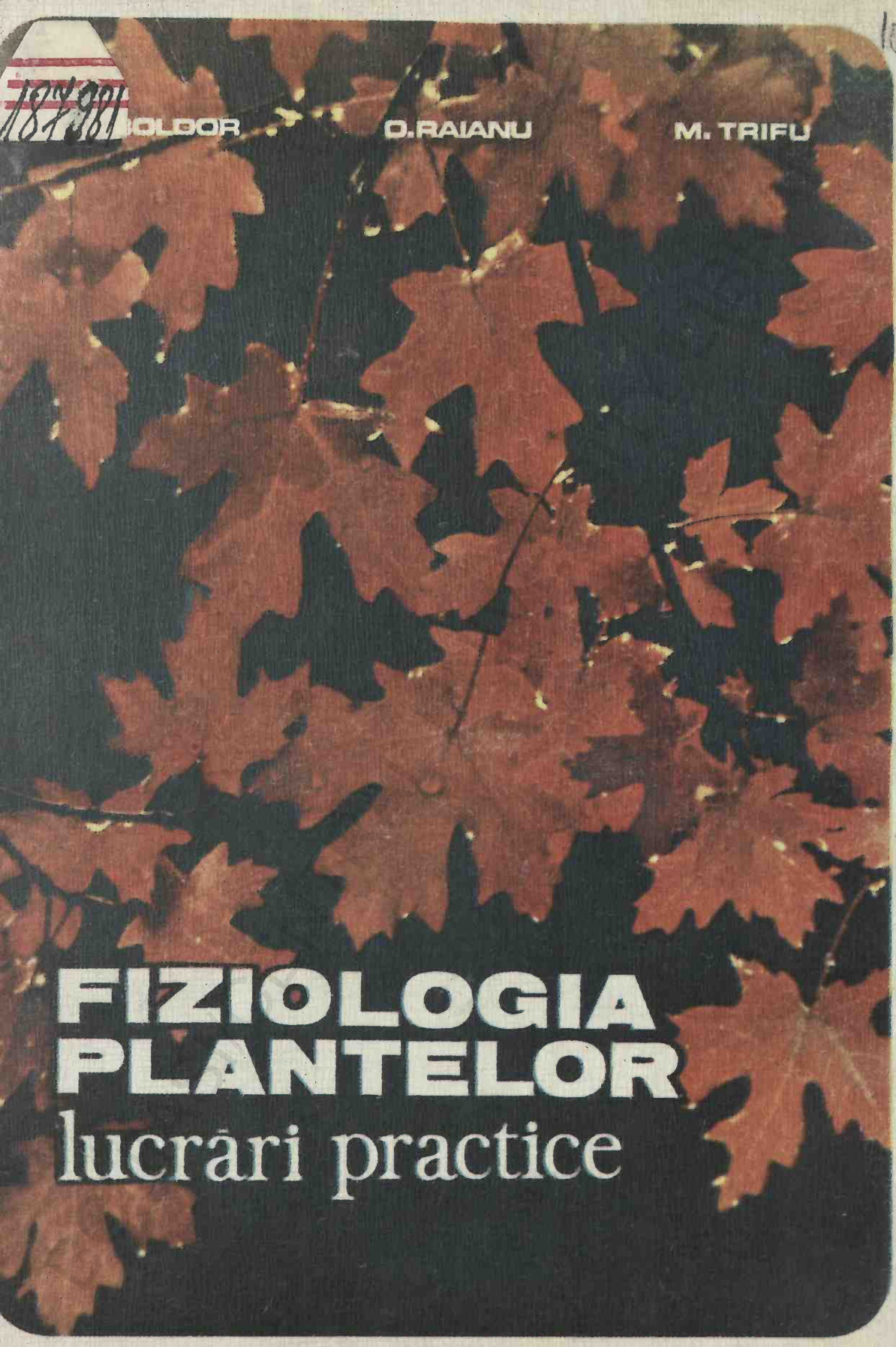
182981

OLDOR O. RAIANU M. TRIFU



FIZIOLOGIA PLANTELOR
lucrări practice

BIBL. CENTR. UNIV.
„M. EMINESCU" IAŞI
II187981

BCUIASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

BCUIASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

BCUIASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Conf. dr. O. BOLDOR Conf. dr. O. RAIANU Conf. dr. M. TRIFU

92256

FIZIOLOGIA PLANTELOR
lucrări practice

COORDONATOR:
Conf. dr. O. BOLDOR

EDITURA DIDACTICĂ ȘI PEDAGOGICĂ, BUCUREȘTI

BCU IAȘI CENTRAL UNIVERSITARY LIBRARY

Manuscrisul a fost analizat și aprobat de colectivele catedrelor de biologie și de conducerile facultăților de biologie, geografie și geologie ale universităților din Cluj-Napoca și Iași, precum și de colectivul catedrei de biologie vegetală și conducerea Facultății de biologie a Universității din București.

20 SEP 1984
B. C. U. „M. EMINESCU"
IAȘI
ab-583048

Redactor: prof. gr. I. *Ali G. Ahmet-Nagi*
Tehnoredactor: *Vergilia Rusu*
Coperta: *Victor Wegemann*

BCU IAȘI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

PREFAȚĂ

Cunoașterea proceselor fiziologice ale organismelor vegetale și însușirea noțiunilor teoretice specifice fiziologiei vegetale, nu pot fi realizate fără efectuarea unui mare număr de experimente, dat fiind caracterul prin excelență experimental al acestui domeniu al biologiei.

Manualul pune la dispoziția celor care studiază problemele de fiziologie vegetală, în rețeaua învățămîntului de toate gradele, un instrument de lucru, pe care îl dorim util, pentru reliefarea numeroaselor aspecte ale proceselor fiziologice ale plantelor.

În manual sînt cuprinse numeroase lucrări, bazate pe utilizarea unor mijloace simple, care permit evidențierea proceselor fiziologice ale plantelor, precum și o serie de procedee, clasice și moderne, utilizate pentru determinarea intensității acestora. Alături de acestea, se găsesc și lucrări cu caracter experimental, de durată mai lungă, care permit studenților din învățămîntul universitar biologic și celor care studiază fiziologia plantelor în institutele agronomice sau la silvicultură, să-și însușească numeroase tehnici de cercetare, să urmărească desfășurarea unor procese și să se familiarizeze cu modalitățile specifice de interpretare a rezultatelor obținute.

Ilustrația, care se vrea sugestivă, numeroasele tabele referitoare la modul de culegere și calculare a datelor, precum și anexa referitoare la prepararea reactivilor necesari, considerăm că vor ușura efectuarea activităților practice de laborator și vor contribui la înțelegerea corectă și temeinică a noțiunilor teoretice predate la prelegerile universitare, sau la lecțiile de biologie vegetală din învățămîntul gimnazial și liceal.

Adresăm mulțumiri sincere tuturor celor care au sprijinit elaborarea acestei lucrări și rămînem receptivi la observațiile și sugestiile cititorilor, care vor fi binevenite și vor contribui la îmbunătățirea conținutului unei eventuale ediții viitoare.

AUTORII

BCUJAS/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

1

REGIMUL DE APĂ AL PLANTELOR

Apa reprezintă constituentul ponderal cel mai important din corpul plantelor. În general, la organismele aflate în stare de viață activă, apa reprezintă 60—90% din masa lor proaspătă. Conținutul în apă al plantelor variază foarte mult în funcție de o serie de factori interni (specie, organ, țesut, vîrstă, stare funcțională, etapa de dezvoltare) și externi (cantitatea de apă din mediu, temperatura, mișcările aerului etc.). Apa reprezintă, de asemenea, un constituent esențial al organismului vegetal, determinînd turgescența celulară și rigiditatea țesuturilor, orientarea moleculelor protoplasmatice în formarea membranelor biologice, vehicularea substanțelor preluate din mediu și a celor elaborate, fiind totodată mediul de dispersie a materiei vii și de reacție biochimică, agent esențial în creșterea plantelor, regulator al temperaturii lor, ca și metabolit al reacțiilor biochimice.

Datorită importanței pe care o are, prezența apei în cantitate suficientă reprezintă un factor primordial pentru supraviețuirea, creșterea și dezvoltarea plantelor; de altfel, alături de temperatură, apa reglează extensiunea covorului vegetal pe suprafața planetei noastre, fiind împreună factorii ecologici principali.

1.1. DETERMINAREA CANTITĂȚII DE APĂ DIN CORPUL PLANTELOR

Conținutul real de apă din corpul plantelor este destul de dificil de stabilit, deoarece apa este reținută cu forțe diferite. O parte din apă este relativ slab reținută, ea putînd fi îndepărtată destul de ușor din plante; o altă parte însă este reținută cu forțe mari și se elimină greu. Îndepărtarea completă a apei necesită condiții ce pot determina descompunerea materiei organice cu eliminare de noi cantități de apă. De aceea, rezultatele determinărilor sînt diferite în funcție de tehnica de extragere a apei și ca urmare ele trebuie comparate numai cu rezultatele obținute prin același procedeu.

Uscarea materialului vegetal se poate face la temperatură obișnuită sau la temperatură înaltă, la presiune obișnuită sau la presiune scăzută, astfel că viteza de uscare variază. Odată cu eliminarea apei se pot petrece și procese secundare, care influențează rezultatele finale, cum sînt: volatilizarea unor produși (uleiuri eterice, acizi organici volatili, alcooli, CO_2 etc.), oxidarea unor acizi nesaturați lichizi, descompunerea unor compuși cu eliberare de apă, absorbția dioxidului de carbon din atmosferă. De aceea, în cazul unor materiale vegetale bogate în compuși volatili, în substanțe oxidabile etc., se folosește determinarea directă, prin antrena-

rea apei din material cu ajutorul unui lichid nemiscibil cu apa și cu punct de fierbere diferit de al acesteia, cum ar fi toluenul, care are punctul de fierbere (p.f.) la 111°C, sau xilenul[1] (ortoxilen cu p.f.=141°C, metaxilen cu p.f.=139°C sau paraxilen cu p.f.=136°C).

Dintre procedeele cunoscute pentru determinarea conținutului de apă din materialele vegetale, două sînt mai des aplicate:

— procedeul de determinare indirectă, prin măsurarea pierderii din masa probei supuse uscării;

— procedeul de determinare directă, prin antrenarea apei cu ajutorul unui lichid nemiscibil cu apa, la temperatura de fierbere a acestuia, urmată de condensarea vaporilor și citirea volumului de apă rezultat.

1.1.1. DETERMINAREA UMIDITĂȚII PRIN USCAREA PROBEI LA 60°C

Principiul procedeului. Se măsoară pierderea din masa probei de cercetat, care are loc prin încălzirea ei la 60°C.

Pregătirea probei. Determinarea se efectuează pe o probă medie de material vegetal, care rezultă din amestecarea cît mai omogenă a mai multor probe parțiale (cel puțin 10) colectate din materialul ce urmează a fi analizat. Proba medie se obține folosind procedeul „sferturilor" (fig. 1.1). În acest scop materialul se întinde într-un strat de formă pătrată, care se împarte în patru prin diagonale, după care se elimină două triunghiuri (A și A'), iar materialul din celelalte două triunghiuri rămase (B și B') se amestecă bine, se întinde din nou într-un strat de formă pătrată și se continuă repetarea operațiilor anterioare pînă la obținerea unei probe de 100—250 g. Proba medie se curăță de impurități (particule de sol, boabe stricate, fragmente vegetale străine etc.), apoi se mărunțește sau se macină și se păstrează, pentru diverse analize ulterioare, la întuneric în borcane cu dop rodat. Cînd materialul este proaspăt, se impune, în prealabil, o „uscare la aer", după care se trece la obținerea probei medii. Pentru aceasta se cîntărește la o balanță tehnică, cu precizie de 0,01 g, o cantitate de material proaspăt, care se întinde pe o foaie de hîrtie și se acoperă cu alta, lăsîndu-l la temperatura camerei pînă ce pare destul de uscat (la pipăit) și apoi se cîntărește din nou. Pierderea din masă prin uscarea lui la aer, adică umiditatea în exces (față de echilibrul atmosferic al umidității), se calculează după relația:

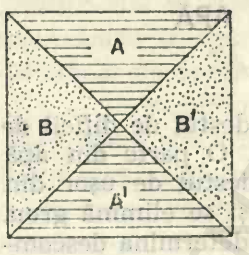


Fig. 1.1. Procedeul „sferturilor" de prelevare a probei medii.

$$U_1 = \frac{A-B}{A} \cdot 100,$$

în care:

U_1 = pierderea procentuală din masă prin uscarea prealabilă;

A = masa probei proaspete (în g);

B = masa probei după uscarea prealabilă (în g);

100 = coeficient pentru exprimarea rezultatului în procente.

Datele obținute se trec într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 1.1.

[1] Uneori apare și sub numele de xilol (în literatura germană).

TABELUL 1.1

Determinarea umidității „în exces"
(exemplificare)

Denumirea probei	Substanța proaspătă A (g)	Substanța uscată B (g)	A—B (g)	U_1 (%)
Plantago indica (frunze)	753,27	355,43	397,84	52,81

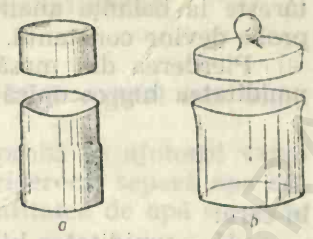


Fig. 1.2. Fiole de cîntărire: a — din metal; b — din sticlă.

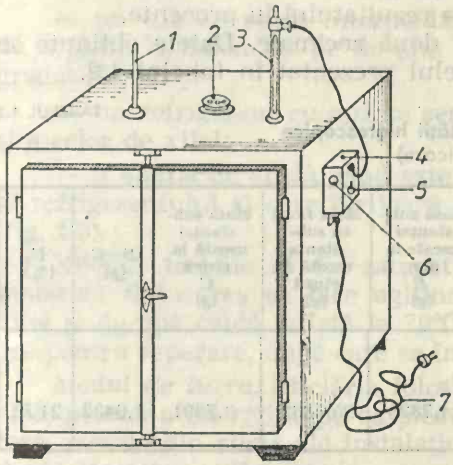


Fig. 1.3. Etuvă cu gură de ventilație:
1 — termometru pentru controlul temperaturii din interior; 2 — gura de ventilație; 3 — termometru de contact pentru stabilirea temperaturii de lucru; 4 — dispozitiv de termoreglare; 5 — comutator; 6 — bec de avertizare asupra funcționării etuvei; 7 — cordon de alimentare.

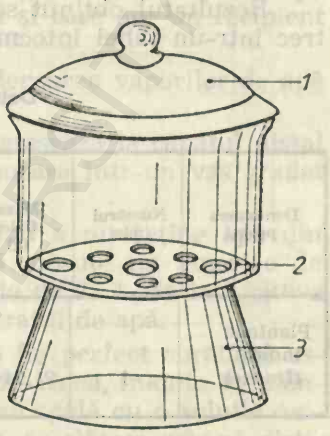


Fig. 1.4. Exicator:
1 — capac, a cărui margine se unge cu vaselină specială (hahnfett) pentru etanșare; 2 — placă de porțelan cu orificii, pe care se așază probele; 3 — incinta în care se introduce substanța higroscopică.

Modul de lucru. Se aduce o fiolă de cîntărire, din sticlă sau din metal (fig. 1.2), la masă constantă. În acest scop se introduce o fiolă bine spălată, în etuvă, la 105°C, pentru o oră, după care se răcește în exicator și se cîntărește la balanța analitică. Se repetă aceste operații pînă ce masa fiolei devine constantă și apoi se introduc în ea aproximativ 5 g din proba medie, se acoperă cu capacul și se cîntărește la balanța analitică. Fiola deschisă, cu capacul așezat vertical pe gura ei, se introduce într-o etuvă prevăzută cu gură de ventilație (fig. 1.3), unde se lasă doar cîteva minute pentru inactivarea enzimelor, după care se usucă numai la temperatura de 60°C[1]. După 12 ore de uscare la 60°C fiola se acoperă cu capacul și se trece într-un exicator cu $CaCl_2$ anhidră (fig. 1.4), unde se ține timp de o oră pentru a se răci, după care se cîn-

[1] Uscarea materialului la 105°C, timp îndelungat, determină pierderea unor compuși volatili și mai ales diverse hidrolize.

tărește la balanța analitică. Operațiile se repetă pînă ce masa fiolei cu proba devine constantă.

Pierderea din masă se exprimă procentual și se consideră ca fiind umiditatea higroscopică a materialului, care se calculează după relația:

$$U_2 = \frac{B-C}{B} \cdot 100,$$

în care:

U_2 = umiditatea higroscopică (în procente);

B = masa probei cu umiditatea higroscopică (substanța „uscată la aer"), în g;

C = masa probei uscate în etuvă (în g);

100 = coeficient pentru exprimarea rezultatului în procente.

Rezultatul obținut se exprimă cu două zecimale. Datele obținute se trec într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 1.2.

TABELUL 1.2

Determinarea umidității higroscopice
(exemplificare)

Denumirea probei	Numărul fiolei	Masa fiolei (g)	Masa fiolei cu substanța uscată la aer (g)	Masa substanței uscate la aer *B* (g)	Masa fiolei cu substanța uscată la etuvă (g)	Masa substanței uscată la etuvă *C* (g)	*B*—*C* (g)	U_2 (%)
Plantago indica (frunze)	1	21,9441	26,7264	4,7823	25,6832	3,7391	1,0432	21,81

Umiditatea totală a materialului se calculează după relația:

$$U = U_1 + \frac{100-U_1}{100} \cdot U_2,$$

în care:

U = umiditatea totală (în procente);

U_1 = umiditatea „în exces" (în procente);

U_2 = umiditatea higroscopică (în procente);

100 = coeficient pentru exprimarea rezultatului în procente.

Datele se trec într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 1.3.

TABELUL 1.3

Determinarea umidității totale
(exemplificare)

Denumirea probei	Umiditatea „în exces" U_1 (%)	Umiditatea higroscopică U_2 (%)	Umiditatea totală *U* (%)
Plantago indica (frunze)	52,81	21,81	63,10

1.1.2. DETERMINAREA UMIDITĂȚII PRIN DISTILAREA PROBEI CU XILEN

Acest procedeu se aplică în cazul cînd materialul vegetal este bogat în substanțe volatile și oxidabile.

Principiul procedeului. Antrenarea apei din probă cu ajutorul vaporilor de xilol, care, după condensare într-un refrigerent, separă apa din materialul vegetal într-un tub gradat, în care cantitatea de apă se poate citi volumetric.

Aparatura de distilare poate fi montată oblic (fig. 1.5) sau vertical (fig. 1.6) și are în compunere:

— un balon de distilare, termorezistent;

— un tub de sticlă intermediar (de legătură), care se adaptează pe de o parte la balon iar pe de alta la refrigerent și care are un recipient gradat (fig. 1.6);

— un refrigerent cu apă ce servește la condensarea vaporilor de apă și a celor de xilol;

— o alonjă de sticlă, cînd este cazul, ce se atașează la capătul distal al refrigerentului și care dirijează apa de condensare într-un vas gradat (fig. 1.5).

Xilenul trebuie să fie saturat cu apă pentru a nu reține apa din material. Saturarea se face agitînd timp de 15 minute un amestec de xilol și de apă caldă (aflată la 70°C), în proporție de 2 : 1. Se lasă cîteva ore pentru separare, după care se îndepărtează stratul de apă.

Modul de lucru. Sticlăria folosită trebuie să fie perfect curată și uscată, pentru a nu reține pe ea picături de apă. De aceea, înainte de montare, piesele din sticlă ale instalației de distilat se spală cu o soluție oxidantă (amestec sulfo-cromic — reactivul nr. 13), se clătesc cu apă disti-

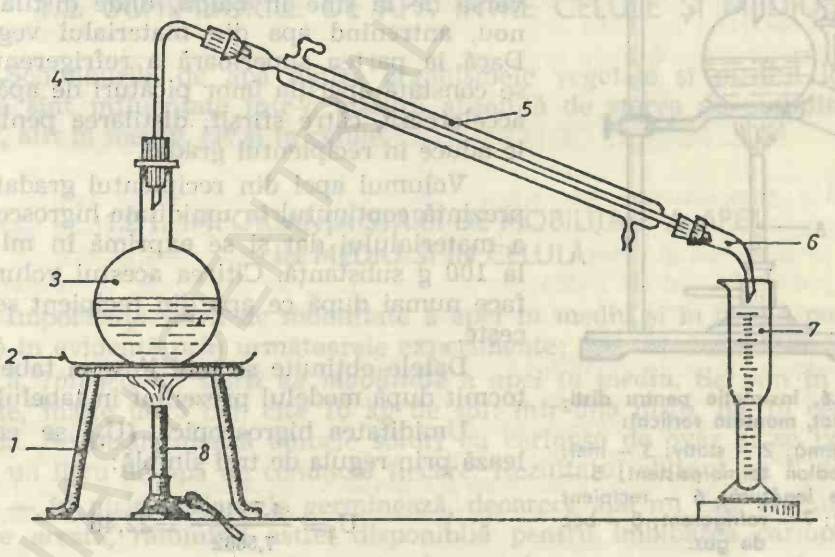


Fig. 1.5. Instalație pentru distilat, montată oblic:
1 — trepied; 2 — sită de azbest; 3 — balon termorezistent; 4 — tub de legătură; 5 — refrigerent; 6 — alonjă; 7 — recipient gradat; 8 — bec de gaz.

lată și se usucă. Spălarea instalației se reia în mod obligatoriu după efectuarea unui număr de cel mult trei determinări. Înainte de începerea determinării se controlează ca dopurile instalației să fie etanșe, pentru ca în timpul lucrului să nu se producă pierderi de apă.

Materialul vegetal, uscat la aer conform procedeului descris la paragraful 1.1.1., adus în stare de pulbere fină și cîntărit la balanța analitică se ia într-o cantitate apreciată astfel încît apa ce rezultă la distilare să nu depășească volumul de 5 ml și să nu fie în cantitate mai mică de 1 ml. Pentru a stabili exact masa materialului luat la determinare, după ce se varsă din fiola de cîntărire cantitatea corespunzătoare de material vegetal în balonul de distilare, fiola cu proba de analiză, a cărei masă inițială era cunoscută, se recîntărește. Cantitatea de material luat la analiză se stabilește făcînd diferența dintre masa inițială și cea finală a fiolei în care s-a aflat proba destinată analizei. După introducerea materialului vegetal în balonul de distilare, se adaugă peste el 100 ml de xilen[1] și cîteva bucățele de piatră ponce sau de marmură, pentru reglarea fierberii. Se montează balonul de distilare la refrigerent și se începe încălzirea, la început mai încet și apoi cu flacără din ce în ce mai mare, pînă se ajunge la o viteză de distilare de 2—4 picături pe secundă. Distilarea se continuă pînă ce volumul apei adunate în recipientul gradat rămîne constant. În timpul distilării xilenul, condensat și eliberat de apă, se revarsă de la sine în balon, unde distilă din nou, antrenînd apa din materialul vegetal. Dacă la partea superioară a refrigerentului se constată apariția unor picături de apă, se accelerează, către sfîrșit, distilarea pentru a le aduce în recipientul gradat.

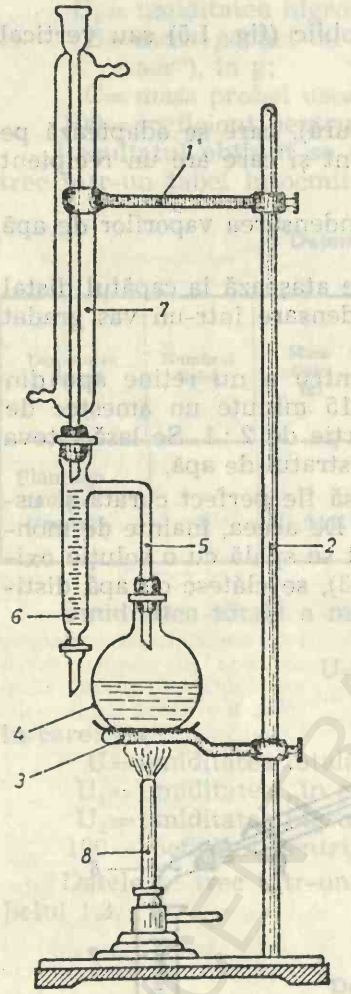


Fig. 1.6. Instalație pentru distilat, montată vertical:
1 — clemă; 2 — stativ; 3 — inel; 4 — balon termorezistent; 5 — tub de legătură; 6 — recipient gradat; 7 — refrigerent; 8 — bec de gaz.

Volumul apei din recipientul gradat reprezintă conținutul în umiditate higroscopică a materialului dat și se exprimă în ml apă la 100 g substanță. Citirea acestui volum se face numai după ce apa din recipient se răcește.

Datele obținute se trec într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 1.4.

Umiditatea higroscopică (U_2) se calculează prin regula de trei simplă:

$$U_2 = \frac{1{,}7 \cdot 100}{7{,}5682} = 22{,}46$$

[1] În lipsa xilenului se poate folosi o benzină grea, care distilă între 100 și 150°C, saturată de asemenea cu apă.

TABELUL 1.4

Determinarea umidității higroscopice
(exemplificare)

Denumirea probei	Numărul fiolei	Masa fiolei (g)	Masa fiolei cu substanța uscată la aer (g)	Masa substanței uscată la aer (g)	Cantitatea de apă colectată (ml sau g)	U_2 (%)
Plantago indica (frunze)	2	35,4626	43,0308	7,5682	1,7	22,46

Umiditatea totală (U) a materialului (umiditatea „în exces" + umiditatea relativă) se calculează după relația prezentată în paragraful 1.1.1.

Datele se trec într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 1.5. Ele confirmă faptul că, pentru același material, rezultatele obținute diferă în funcție de procedeul folosit la îndepărtarea apei: 63,10% (v. tabelul 1.3) și 64,66% (v. tabelul 1.5). De aici rezultă obligativitatea folosirii aceleiași tehnici de extragere a apei, atunci cînd datele obținute urmează a fi comparate.

TABELUL 1.5

Determinarea umidității totale
(exemplificare)

Denumirea probei	Umiditatea „în exces" U_1 (%)	Umiditatea higroscopică U_2 (%)	Umiditatea totală U (%)
Plantago indica (frunze)	52,81	22,46	64,66

1.2. SCHIMBURILE DE APĂ ÎNTRE CELULE ȘI MEDIU

Schimburile de apă dintre organismele vegetale și mediul lor de viață sînt influențate într-o măsură absolută de starea de mobilitate a apei, atît în mediu, cît și în celule.

1.2.1. IMPORTANȚA STĂRII DE MOBILITATE A APEI ÎN MEDIU ȘI ÎN CELULĂ

Importanța stării de mobilitate a apei în mediu și în celulă poate fi pusă în evidență prin următoarele experimente:

a. *Importanța stării de mobilitate a apei în mediu.* Se pun în două lădițe, înalte de 5 cm, cîte 10 kg de sol: într-una nisip, iar în cealaltă argilă. Se însămînțează ambele soluri cu cariopse de ovăz și se udă cu cîte un litru de apă de conductă fiecare. Rezultatul obținut va fi diferit:

— în nisip cariopsele germinează, deoarece apa nu este reținută de către acesta, rămînînd astfel disponibilă pentru imbibarea cariopselor;

— în argilă cariopsele nu germinează deoarece apa este reținută cu putere de către complexul absorbant al solului, fapt ce face ca să nu poată participa la îmbibarea lor (fig. 1.7).

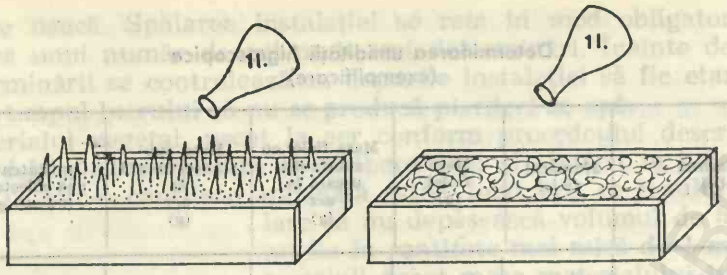


Fig. 1.7. Demonstrarea importanței stării de mobilitate a apei în mediu:
a – lădița umplută cu nisip; b – lădița umplută cu argilă.

b. *Importanța stării de mobilitate a apei în celule.* Se cîntăresc cîte 100 g semințe de mei și de fasole, care se introduc apoi în apă, unde se țin pînă cînd masa lor crește cu 30 g. În acest scop semințele se scot periodic din apă, se tamponează cu hîrtie sugativă pentru îndepărtarea apei de pe suprafața lor și apoi se recîntăresc. Aceste operații se repetă pînă ce masa inițială a semințelor va crește cu 30 g. Cu toate că cele două feluri de semințe au primit aceeași cantitate de apă, comportamentul lor este diferit:

— semințele de mei germinează deoarece apa din ele este suficient de liberă pentru a permite realizarea proceselor de hidroliză necesare germinării;

— semințele de fasole nu germinează deoarece apa din ele este prea puternic legată de biocoloizi, pentru a permite hidroliza substanțelor de rezervă.

Din experimentele prezentate în paragraful 1.2.1 a și b rezultă că apa lichidă poate fi reținută, în celule sau în mediu, prin forțe de retenție. Cunoașterea acestora este prima problemă de elucidat în înțelegerea schimburilor de apă între organismul vegetal și mediu.

1.2.2. FORȚELE CE REȚIN APA ÎN CELULĂ SAU ÎN MEDIU

Prin experimente sau simple observații, se pot decela unele forțe (sau presiuni) care rețin apa în celulă sau în mediu. După natura acestor forțe se definesc și diferitele forme de apă din celulă sau mediu. Aceste forțe pot fi de natură fizică (forțele osmotice, de imbibiție, adsorbție, de coeziune moleculară, de capilaritate) și de natură chimică (forțele legăturilor chimice).

Forțele de reținere a apei influențează în mod diferit viața plantelor, după cum acționează în celule sau în mediu. În primul caz ele rețin apa sau determină pătrunderea ei în celule, sau limitează pierderile de apă din celule. Totodată ele coboară punctul de congelare a protoplasmei: apa osmotică îngheață între 0° și —6°C în funcție de concentrația soluției, cea de capilaritate începînd de la —6°C, iar cea de imbibiție nu este congelată nici la —20°C.

Cînd acționează în mediu, forțele de reținere a apei constituie un obstacol pe care plantele trebuie să-l învingă pentru a se alimenta cu apă.

1.2.2.1. Forțele osmotice

Aceste forțe sînt determinate de substanțele dizolvate, a căror particule dispersate rețin apa. Apa reținută prin forțe osmotice se numește apă osmotică (apă de dizolvare sau, impropriu, apă liberă). Eliberarea acestei forme de apă din țesuturi, prin transpirație, este cu atît mai dificilă cu cît sucul vacuolar este mai concentrat. Legăturile contractate între moleculele de apă și cele ale substanțelor dizolvate pot fi puse în evidență ușor prin următoarele procedee:

a. Pe talerele unei balanțe se așază cîte o cutie Petri de același diametru și într-una se pune apă distilată, iar în cealaltă o soluție de zaharoză 10%. Se echilibrează balanța și se lasă în repaus. Apa din soluția de zaharoză, fiind reținută prin forțe osmotice, se evaporă în cantitate mai mică, ceea ce duce, după un timp, la ruperea echilibrului balanței.

b. Se încălzește, pînă la fierbere, aceeași cantitate de apă pură și de soluție de zaharoză 10%. Fierberea soluției are loc la o temperatură mai mare de 100°C, temperatură la care apa pură fierbe, deoarece în soluție moleculele de apă sînt reținute de cele de zaharoză. Din același motiv, soluțiile apoase ale diferitelor substanțe îngheață la o temperatură mai joasă de 0°C, la care apa pură se solidifică, punctul lor de înghețare fiind cu atît mai scăzut cu cît concentrația acestora este mai mare.

1.2.2.2. Forțele de imbibiție

Forțele de imbibiție sînt determinate de imbibarea coloizilor hidrofili, întrucît aceștia limitează eliberarea apei din ei. Apa reținută prin aceste forțe se numește apă de imbibiție[1]. Reținerea apei prin forțele de imbibiție se evidențiază în modul următor:

Se echilibrează, pe talerele unei balanțe, o cutie Petri ce conține apă distilată și una ce conține vată îmbibată cu apă. După un timp echilibrul este rupt în favoarea ultimei, deoarece forțele de imbibiție limitează evaporarea apei din vată.

În cazul micelelor coloidale îmbibate puternic cu apă forțele de imbibiție sînt mici, astfel că tensiunea vaporilor de apă este mare. Puterea de reținere a apei de către micelele coloidale este foarte mare cînd acestea sînt puțin îmbibate.

1.2.2.3. Forțele de adsorbție

Apa poate fi fixată la suprafața diverselor particule (ioni sau molecule) prin forțe de adsorbție, care sînt mai ales forțe electrostatice, datorită stării dipolare a apei. Această fracțiune a apei (apa de adsorbție sau de hidratare) determină fenomenul de solvatare a particulelor coloidale și de electrostricție a ionilor minerali, prin formarea în jurul lor

[1] În celule se găsesc numeroși coloizi hidrofili (proteine, mucilagii, celuloză etc.) care rețin apa prin forțe de imbibiție foarte puternice.

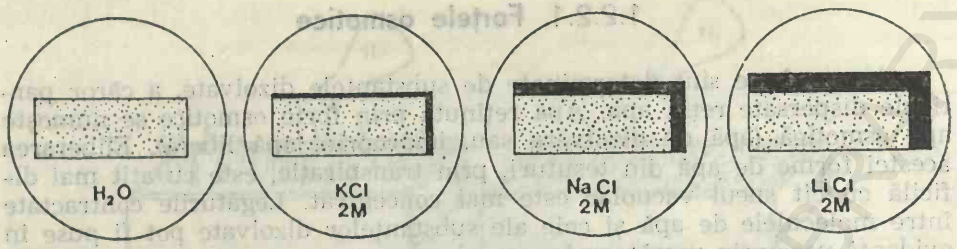


Fig. 1.8. Influența electroliților asupra imbibiției proteinelor:
plăcile de gelatină se îmbibă mai puternic în soluții electrolite decît în apă (zonele înnegrite arată plusul de imbibiție față de apă).

TABELUL 1.6

Lungimea plăcilor de gelatină (în mm) după 24 de ore

Varianta / Repetiția	H_2O	KCl	NaCl	LiCl
1				
2				
3				
4				
5				
Media				

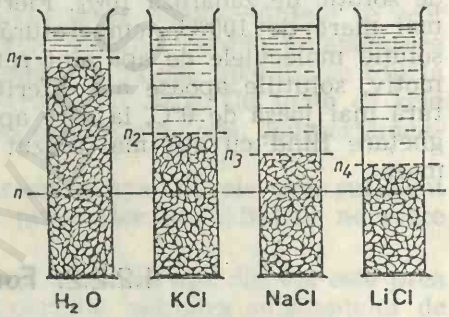


Fig. 1.9. Influența electroliților asupra imbibiției mucilagiilor din testa semințelor de in (semințele se îmbibă mai puternic în apă decît în soluții electrolite);
n — nivelul inițial al semințelor; n_1, n_2, n_3 și n_4 — nivelurile semințelor după o imbibiție de 24 de ore.

a unui înveliș dens de molecule de apă nedisociate[1]. În cazul ionilor învelișul lor apos este cu atît mai gros cu cît este mai mică raza și încărcătura electrică a ionului respectiv.

Imbibiția diferită a proteinelor și a substanțelor mucilaginoase în apă și în soluții de electrolite se datorește fenomenului de electrostricție: proteinele se îmbibă mai puternic în soluțiile de electrolite decît în apă, deoarece ele fixează puternic ionii; or aceștia aduc cu ei învelișul lor apos, astfel că efectul lor asupra imbibiției coloidului este mai mare decît cel al ionilor rămași în soluție. Adsorbția ionilor este invers proporțională cu învelișul lor apos. Substanțele mucilaginoase, din contra, se îmbibă mai mult în apă decît în soluții de electrolite, deoarece, fixînd

[1] Numeroase substanțe din celule oferă suprafețe enorme de adsorbție a apei: 1 g de celuloză oferă o suprafață de un milion cm^2; 100 molecule proteice adsorb 4—5 milioane molecule de apă.

slab ionii, efectul acestora asupra imbibiției este mai mic decît efectul ionilor rămași în soluție, care reține apa.

Efectul diferit al apei, reținută prin forțe de adsorbție în jurul ionilor, asupra gradului de imbibiție a macromoleculelor se poate evidenția astfel:

a. *În cazul proteinelor.* Se taie plăci de gelatină de 30 mm lungime și 15 mm lățime, care se pun în număr de cîte cinci în cutii Petri la îmbibat, în următoarele variante: în apă, în soluție de KCl, NaCl și LiCl 2 M. Se va constata că, în timp, plăcile se vor îmbiba în mod diferit (fig. 1.8). După 24 de ore se măsoară lungimea plăcilor și datele obținute se trec într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 1.6. Lungimea acestor plăci va fi maximă în soluția de LiCl și va descrește în celelalte variante în succesiunea NaCl—KCl—H_2O.

b. *În cazul mucilagiilor.* Se introduc în patru cilindri izodiametrici (sau în patru eprubete) aceleași cantități de semințe de in (care au testa bogată în mucilagii) și se marchează nivelul lor inițial. Se adaugă apoi în cilindri, în aceeași cantitate, în primul apă, în al doilea o soluție de KCl 2 M, în al treilea NaCl 2 M, iar în al patrulea LiCl 2 M. Se va constata că semințele se vor imbiba în mod diferit (fig. 1.9). După 24 de ore se măsoară diferențele de nivel la care au ajuns semințele îmbibate și se notează rezultatele obținute.

1.2.2.4. Forțele de coeziune moleculară

Aceste forțe se evidențiază foarte simplu aplicînd una peste alta două lame de sticlă (lame port obiect utilizate la microscopie) udate cu apă. Separarea lor necesită o oarecare tracțiune, deoarece între moleculele de apă există forțe mari de coeziune, care se opun scindării în două a masei de apă dintre lame. Nu se poate vorbi de apă de coeziune deoarece atracția moleculară există în toate formele de apă lichidă.

Evidențierea forțelor de coeziune moleculară a apei în plante se poate realiza folosind ca test celulele moarte și pline cu apă din inelul mecanic al sporangilor de ferigă *(Polypodium),* al căror perete extern este subțire și elastic, iar ceilalți sînt lignificați și îngroșați. La maturitatea sporilor, pe timp foarte uscat, apa din celulele inelului mecanic se evaporă, iar peretele lor extern este supt către interior datorită coeziunii dintre moleculele de apă, devenind concav, fapt ce determină deschiderea lentă a sporangilor. Cînd tensiunea dintre moleculele de apă din celulele inelului mecanic și cele care îmbibă peretele extern al acestor celule ajunge la circa 200—300 atmosfere, coeziunea este anulată și peretele lor se desprinde brusc de masa de apă din interiorul celulelor. Aceasta determină o închidere tot atît de bruscă a sporangilor, ceea ce face ca sporii să fie aruncați la oarecare distanță (fig. 1.10).

Pentru determinarea forței de coeziune dintre moleculele de apă din celulele inelului mecanic al sporangilor de *Polypodium,* se țin sporangii în spații închise în prezența unor soluții de concentrații diferite, cunoscute (procedeul *Ursprung*). Se pune, folosind datele din tabelul 1.7, cîte un mililitru de soluții de zaharoză de concentrații diferite în excavațiile unei plăci de porțelan, astfel ca să se realizeze o gamă de presiuni osmotice ridicate, cuprinse între valorile de 200—300 atmosfere.

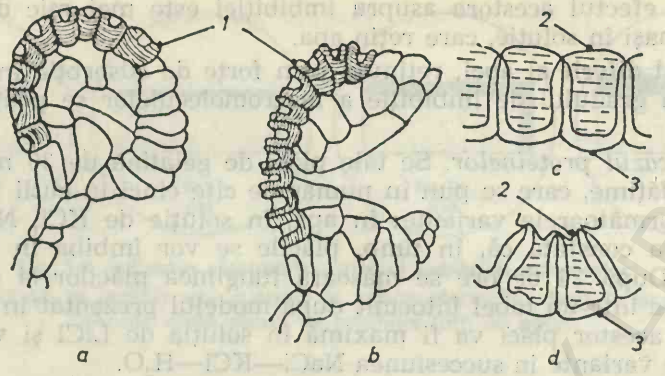


Fig. 1.10. Deschiderea sporangelui unei ferigi datorită forțelor de coeziune a apei din celulele inelului mecanic (după Ursprung):

a — sporange închis; b — sporange deschis; c — celulele inelului mecanic în stare de turgescență; d — celulele inelului mecanic după evaporarea parțială a apei din ele; 1 — inelul mecanic; 2 — fața externă a celulelor inelului mecanic; 3 — fața internă a celulelor inelului mecanic.

Sporangii deschiși se fixează, folosind o pensetă fină, de porțiunea centrală a unor lamele de sticlă, cu ajutorul unor granule mici de vaselină sau a unor picături de ulei. Dacă sporangii nu sînt deschiși, se așază în prealabil frunza care îi poartă, într-un exicator, deasupra unei soluții concentrate de H_2SO_4. După așezarea sporangilor pe lamele, se acoperă

TABELUL 1.7

Presiunea osmotică a soluțiilor de zaharoză la 20°C
(după A. Ursprung)

Concentrația soluției (M)	Presiunea osmotică (atm)	Concentrația soluției (M)	Presiunea osmotică (atm)	Concentrația soluției (M)	Presiunea osmotică (atm)
0,05	1,3	1,00	35,2	1,95	111,3
0,10	2,7	1,05	37,8	2,00	117,5
0,15	4,0	1,10	40,4	2,05	124,2
0,20	5,3	1,15	43,2	2,10	131,3
0,25	6,7	1,20	46,0	2,15	138,9
0,30	8,2	1,25	48,9	2,20	146,9
0,35	9,7	1,30	52,0	2,25	155,4
0,40	11,2	1,35	55,4	2,30	164,2
0,45	12,8	1,40	58,9	2,35	173,3
0,50	14,5	1,45	62,7	2,40	182,9
0,55	16,2	1,50	66,6	2,45	192,8
0,60	18,0	1,55	70,8	2,50	203,1
0,65	19,8	1,60	75,1	2,55	214,0
0,70	21,8	1,65	79,7	2,60	225,6
0,75	23,8	1,70	84,4	2,65	238,0
0,80	25,9	1,75	89,4	2,70	251,1
0,85	28,1	1,80	94,5	2,75	265,2
0,90	30,4	1,85	99,9	2,80	280,3
0,95	32,7	1,90	105,5	—	—

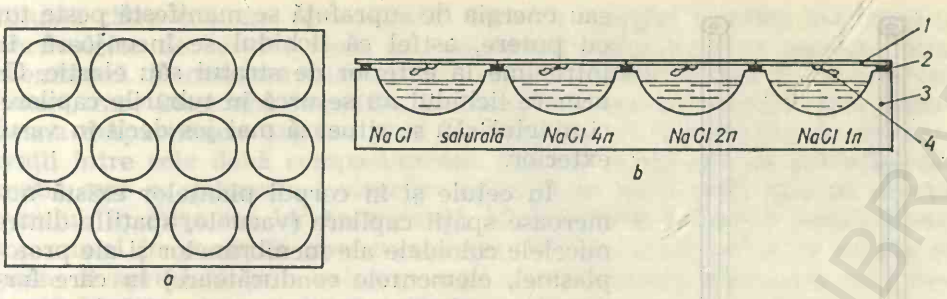


Fig. 1.11. Determinarea forței de coeziune a apei din celulele inelului de la sporangele de Polypodium:

a – placa cu excavații, văzută de sus; b – secțiune prin placă; 1 – lamelă; 2 – vaselină; 3 – placa în ale cărei excavații se găsesc soluții de concentrație cunoscută; 4 – sporange.

fiecare excavație cu cîte o lamelă, astfel ca sporangii să fie situați pe fața dinspre excavație a lamelelor (fig. 1.11). Pentru a se obține spații perfect etanșe, înainte de aplicarea lamelelor pe excavații, marginile lor se ung cu un strat de vaselină. Se urmărește apoi la un stereomicroscop (fig. 1.12) în care dintre excavații va avea loc închiderea sporangilor. Valoarea forței de coeziune a moleculelor de apă din celulele inelului mecanic, exprimată în atmosfere, va fi egală cu presiunea osmotică a soluției de zaharoză cu concentrația cea mai mică dintre soluțiile care au determinat închiderea sporangilor.

1.2.2.5. Forțele de capilaritate

Aceste forțe sînt un efect al tensiunii superficiale și al forțelor de adsorbție și de coeziune a moleculelor de apă. Datorită acestora unele lichide (cele care „umezesc" pereții solizi) urcă în tuburile capilare, iar altele (cele care nu „umezesc" pereții solizi) coboară în tuburile capilare.

Cele mai multe lichide „umezesc" pereții solizi, fiind adsorbite puternic pe suprafața acestora. Așa se comportă apa față de sticlă: atracția moleculelor apei față de sticlă este mai mare decît atracția dintre ele, astfel că în preajma peretelui de sticlă tensiunea superficială a apei scade mult, ceea ce face ca ea să se urce în tuburile capilare la un nivel mai ridicat decît în vasul extern.

Unele lichide nu „umezesc" pereții solizi, neadsorbindu-se pe suprafața acestora. Așa se comportă mercurul față de sticlă, sau apa față de parafină: atracția dintre moleculele lichidului este mare, tensiunea superficială

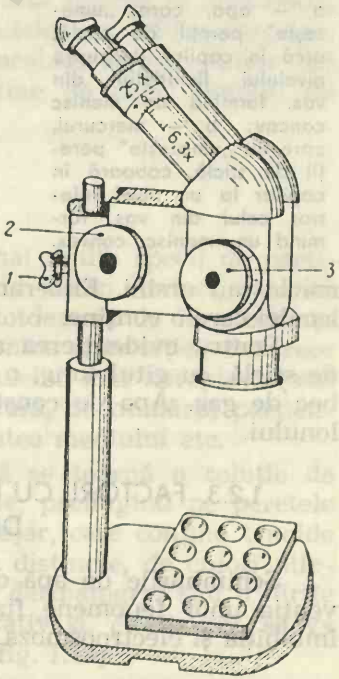


Fig. 1.12. Stereomicroscop:

1 – șurub pentru fixarea lupei la înălțimea corespunzătoare; 2 – tambur pentru reglarea fină a focalizării; 3 – tambur pentru schimbarea obiectivelor cu putere de mărire diferită.

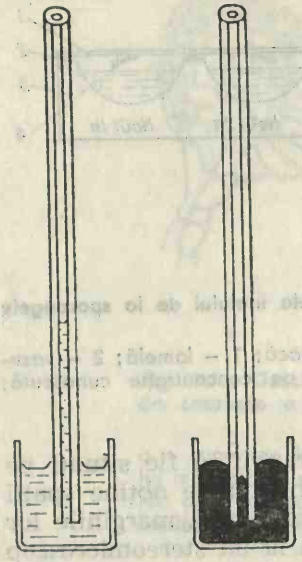


Fig. 1.13. Evidențierea forțelor de capilaritate:
a — apa, care „umezește" pereții de sticlă, urcă în capilar deasupra nivelului lichidului din vas, formînd un menisc concav; b — mercurul, care nu „umezește" pereții de sticlă, coboară în capilar la un nivel inferior celui din vas, formînd un menisc convex.

sau energia de suprafață se manifestă peste tot cu putere, astfel că lichidul se înconjoară în întregime la exterior de stratul său elastic. Ca urmare lichidul nu se urcă în tuburile capilare, ci nivelul său se situează mai jos decît în vasul exterior.

În celule și în corpul plantelor există numeroase spații capilare (vacuole, spațiile dintre micelele coloidale ale membranelor și ale protoplasmei, elementele conducătoare) în care forțele de capilaritate rețin apa. Această fracțiune a apei este apa de capilaritate.

Evidențierea forțelor de capilaritate se realizează foarte simplu, introducînd un tub capilar într-un vas cu apă și unul într-un vas cu mercur: apa, „udînd" pereții capilarului formează un menisc concav și hemisferic la suprafață, care determină urcarea lichidului deasupra nivelului lui din vasul exterior; la mercur meniscul este convex și în capilar nivelul lui se plasează mai jos decît în vasul extern (fig. 1.13).

1.2.2.6. Forțele legăturilor chimice

Apa de constituție este legată chimic de unele molecule. Astfel, oxalatul de calciu — $Ca(COO)_2$ — poate fi monohidratat cînd cristalizează în rafide, sau trihidratat cînd formează macle sau ursini. Eliberarea apei de constituție implică distrugerea moleculei care o conține.

Pentru evidențierea apei chimic legate, se pune într-un balon mic de sticlă, cu gîtul lung, o cantitate de $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ și se încălzește la un bec de gaz. Apa de constituție se va evapora și condensa pe gîtul balonului.

1.2.3. FACTORII CU ROL IMPORTANT ÎN SCHIMBURILE DE APĂ DINTRE CELULE ȘI MEDIU

Schimburile de apă dintre celule și mediu se realizează prin intervenția unor fenomene fizice, dintre care un rol important au osmoza, imbibiția și electroosmoza.

1.2.3.1. Osmoza și schimburile de apă ale celulei

Osmoza este fenomenul fizic de trecere a unui solvent printr-o membrană semipermeabilă, care separă două soluții de concentrații diferite, sau o soluție de solventul pur. Sensul mișcării este de la soluția mai

diluată către cea mai concentrată, datorită energiei cinetice mai mari a particulelor de solvent, care impulsionează astfel trecerea acestora prin membrană. Denumirea fenomenului vine din limba greacă de la cuvîntul *ōsmos*, care înseamnă impulsie, îndemn. Trecerea solventului prin membrana despărțitoare are loc pînă la stabilirea unui echilibru de concentrații între cele două compartimente. Fiecare lichid are un potențial osmotic care se datorește loviturilor aplicate de particulele sale pe pereții vasului, în mișcarea lor browniană[1]. Manifestarea presiunii osmotice are loc numai în prezența unei membrane ce separă solventul de soluție și poate fi apreciată prin valoarea unei contrapresiuni mecanice, care determină oprirea curentului de solvent.

Fenomenul de osmoză reprezintă o cale fundamentală de pătrundere a apei în celulă. El stă la baza conducerii și distribuției apei în organismele vii, deși nu toate mișcările de pătrundere sau de ieșire a apei din celulă se datoresc forțelor osmotice. Osmoza poate fi studiată folosind membrane permeabile și, în special, membrane semipermeabile.

1.2.3.1.1. Osmoza prin membrane permeabile

Membranele permeabile (dializante) opresc particulele coloidale, însă pot fi străbătute de apă și de cea mai mare parte dintre moleculele cristaloidale (cu diametrul mai mic de 1 mμ). Această trecere se realizează, în cazul apei, prin osmoză, iar în cazul cristaloidelor prin difuziune, care reprezintă, de fapt, o dializă. Membrane permeabile se pot obține din pergament, colodiu, celofan, vezică sau intestine de porc, branhii de pește etc.

1.2.3.1.1.1. Difuziunea

Este fenomenul fizic prin care două sau mai multe specii de particule (ioni sau molecule) se amestecă în cazul cînd vin în contact, datorită mișcărilor lor cinetice. Sensul mișcării este întotdeauna de la substanța mai concentrată către cea mai diluată, chiar contra gravitației, deoarece energia cinetică este mai mare în cazul particulelor mai apropiate (mai dense). Viteza difuziei este funcție de temperatură, de numărul particulelor care difuzează, de mărimea lor, de fluiditatea mediului etc.

a. *Difuziunea descendentă.* Într-o eprubetă se toarnă o soluție de zaharoză 10%, peste care se adaugă, cu atenție, prelingînd pe peretele eprubetei, un decoct (fiertură) din frunze de stejar, care conține tanoide de culoare brună. Se obțin astfel două straturi distincte, de culori diferite, a căror limită se marchează cu un creion dermatograf sau o hîrtie gumată. Eprubeta se lasă în repaus într-un stativ și, cu timpul, se va putea constata că cele două soluții se amestecă (fig. 1.14).

b. *Difuziunea ascendentă.* Se ia o eprubetă ce se prelungește cu un rezervor lateral, se umple cu apă, se dă drumul în apa din ea unui cris-

[1] Mișcările „browniene" au fost descoperite în 1831 de către botanistul englez Robert Brown (1773—1857), care a văzut la microscop mișcările în zigzag ale unor grăuncioare de polen, aflate într-o picătură de apă.

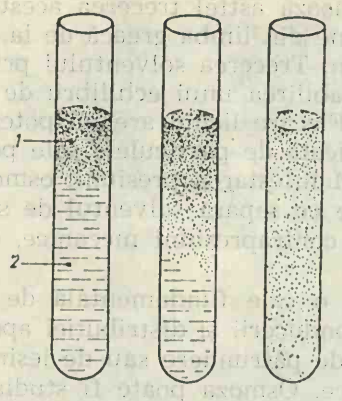


Fig. 1.14. Difuziunea descendentă, după gradientul de concentraţie:
1 – soluţie de tanin; 2 – soluţie de zaharoză.

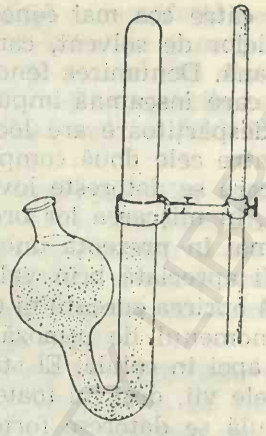


Fig. 1.15. Difuziunea ascendentă a permanganatului de potasiu, împotriva forţei de gravitaţie.

tal de permanganat de potasiu ($KMnO_4$) şi se lasă eprubeta în repaus, fixată la un stativ. Cristalul de $KMnO_4$ se dizolvă, iar moleculele sale se intercalează în toată masa apei, difuzînd ascendent (fig. 1.15).

c. *Difuziunea ritmică.* Se prepară un sol coloidal de gelatină cu bicromat de potasiu (reactivul nr. 33) şi se toarnă într-o cutie Petri, într-un strat de 2—3 cm grosime. După gelificare se adaugă cu o pipetă, în porţiunea centrală a suprafeţei acestuia, 2—3 picături dintr-o soluţie de $AgNO_3$ 20%. În urma adăugării acesteia apare imediat o coloraţie roşie datorită formării bicromatului de argint:

$$K_2Cr_2O_7 + 2AgNO_3 \longrightarrow Ag_2Cr_2O_7 + 2KNO_3$$

Se acoperă cutia Petri cu capacul, căptuşit în prealabil cu hîrtie de filtru umectată şi se aşază la întuneric, pentru a evita reducerea la lumină a argintului. După un timp se constată că s-a modificat culoarea picăturilor adăugate, din roşu în galben, datorită trecerii bicromatului de argint în cromat de argint:

$$Ag_2Cr_2O_7 \longrightarrow Ag_2CrO_4 + CrO_3$$

Acesta, difuzînd, formează cu gelatina un precipitat alb ce se depune succesiv, sub formă de inele concentrice, vizibile chiar cu ochiul liber. Ele devin mai vizibile, căpătînd o tentă uşor albăstrie, dacă, după ce a avut loc difuziunea, se aşază cutia Petri la lumină (fig. 1.16).

d. *Difuziunea cristaloidelor în geluri coloidale.* Viteza de difuziune a ionilor minerali în gelurile coloidale este funcţie de dimensiunea învelişului lor apos, reţinut prin forţe de adsorbţie (forţe dipol): în general, cu cît este mai mică raza ionică, cu atît numărul de hidratare (numărul de molecule de apă nedisociate) este mai mare. Viteza de difuzie este

invers proporțională cu grosimea apei de electrostricție, fapt dovedit de seria liotropă $K^+ > Na^+ > Ca^{2+} > Mg^{2+} > Al^{3+}$.

Pentru evidențierea acestui fenomen se dizolvă într-un flacon, plasat într-o baie cu apă fierbinte, 15 g de gelatină în 100 ml de apă distilată și, după ce s-a răcit puțin, se amestecă cu 10 ml de soluție de $AgNO_3$ 0,1 n. Solul obținut se toarnă apoi, pînă la aceeași înălțime, în cinci eprubete izodiametrice. După gelificare se marchează meniscul lor și se adaugă apoi în eprubete cîte 3 ml din următoarele soluții: în prima eprubetă KCl, în a doua NaCl, în a treia $CaCl_2$, în a patra $MgCl_2$, iar în a cincea $AlCl_3$, toate în concentrația de 1 n. Se etichetează eprubetele și se așază în stativ, la întuneric, pentru a împiedica reducerea argintului la argint metalic. Difuziunea ionilor este însoțită de formarea clorurii de argint, de culoare albă, astfel că frontul de înaintare a curentului de difuzie se delimitează perfect. Datorită acestui fapt este posibil de urmărit, cantitativ, viteza de difuziune a diverșilor electroliți. Aceasta se măsoară după diferite intervale de timp și se notează într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 1.8.

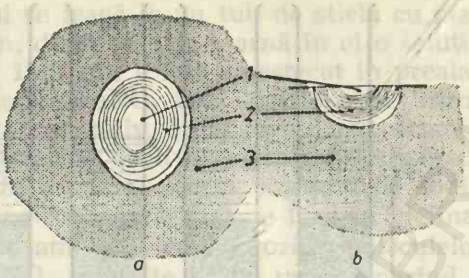


Fig. 1.16. Difuziunea ritmică:
a – văzută de sus, puțin lateral; b – văzută în secțiune; 1 – Ag_2CrO_4; 2 – inele concentrice formate prin difuziunea argintului; 3 – gel de gelatină cu $K_2Cr_2O_7$.

e. *Difuziunea coloidelor în geluri coloidale.* Viteza de difuziune a coloidelor în geluri coloidale este invers proporțională cu masa lor moleculară.

Pentru evidențiere se prepară un sol de gelatină 15%, care se toarnă, pînă la același nivel, în șapte eprubete izodiametrice. După gelificare se adaugă în fiecare eprubetă cîte 2 ml din următoarele soluri coloidale: în prima eprubetă roșu neutru (cu masa moleculară= 225,279) 1/10 000, în a doua albastru de metilen (cu masa moleculară=284,410) 1/10 000, în a treia albastru de anilină care are masa moleculară 516,671 (reactivul nr. 10), în a patra eosină (cu masa moleculară=647,948) 1/10 000, în a cincea tuș negru (cu masa moleculară necunoscută), în a șasea roșu de Congo (cu masa moleculară=667,666) 1/10 000 și în a șaptea clei de amidon 0,1% (reactivul nr. 16), amidonul avînd masa moleculară de circa 1 milion. Pri-

TABELUL 1.8

Viteza de difuziune a cristaloidelor în geluri coloidale

Electrolitul	Viteza de difuziune (în mm) după				
	12 ore	24 ore	36 ore	48 ore	60 ore
KCl					
NaCl					
$CaCl_2$					
$MgCl_2$					
$AlCl_3$					

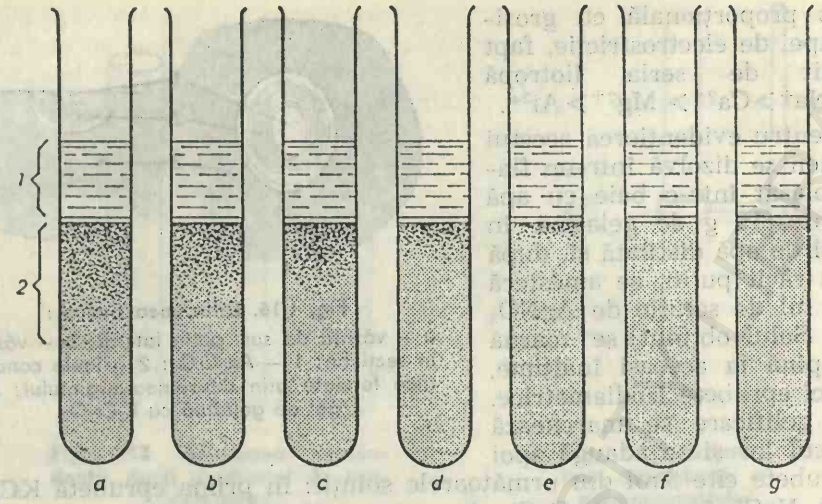


Fig. 1.17. Difuziunea coloidelor în geluri coloidale:

a — roşu neutru; b — albastru de metilen; c — albastru de anilină; d — eosină; e — tuş; f — roşu de Congo; g — clei de amidon; 1 — soluţiile coloidale; 2 — zonele în care a avut loc difuziunea soluţiilor coloidale.

mele patru substanţe pătrund, funcţie de timp, la niveluri diferite în gelul coloidal, dînd o scară descrescîndă bine exprimată, iar celelalte trei nu difuzează deloc (fig. 1.17).

1.2.3.1.1.2. Dializa

Este fenomenul de trecere a unei substanţe dizolvate printr-o membrană permeabilă, care desparte soluţia de dizolvantul pur. Denumirea fenomenului vine de la cuvintele greceşti *dia* care înseamnă prin şi *lysis* care înseamnă separaţie.

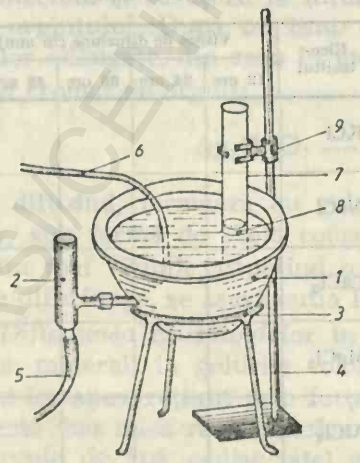


Fig. 1.18. Instalaţie pentru dializă:

1 — baie cu apă; 2 — sifon; 3 — trepied; 4 — stativ; 5 — furtun pentru scurgerea apei; 6 — furtun pentru aducţiunea apei; 7 — tub de sticlă cu membrană dializantă; 8 — amestecul coloid-cristaloid; 9 — clemă cu mufă.

Pentru evidențierea fenomenului se leagă la un tub de sticlă cu diametrul convenabil o hîrtie de celofan, după care se toarnă în el o soluție de clei de amidon 5% (reactivul nr. 16), care a fost amestecat în prealabil, în proporție de 3 : 1, cu o soluție de $NaNO_3$ 1%. Dializorul se introduce în apa unei băi și se fixează la un stativ, după care se dă drumul de la robinet unui curent de apă, astfel ca debitul lui să nu depășească puterea de evacuare a băii (fig. 1.18). În felul acesta, azotatul de sodiu este îndepărtat din baie, pe măsură ce dializează, fapt ce face ca în final să rămînă în dializor numai solul de amidon, care, datorită moleculelor sale mari, nu dializează. Dializa $NaNO_3$ se poate proba ușor, picurînd o picătură de difenilamină (reactivul nr. 20) peste puțină apă luată din baie și așezată pe o placă de faianță: apare o coloratie albastră. Făcînd, în același mod, proba amidonului cu o picătură de Lugol (reactivul nr. 25), nu se obține nici o coloratie, ceea ce dovedește că amidonul nu a dializat. Finalul dializei se stabilește cînd proba azotaților cu difenilamină, aplicată asupra unei picături de soluție luată din dializor, apare negativă. Picurînd o picătură de Lugol, apare o coloratie albastră, caracteristică pentru amidon în prezența iodului.

Prin fenomenul de dializă este posibil să se separe sistemele coloidale de cele cristaloidale, aflate împreună într-o soluție.

1.2.3.1.1.3. „Osmometrul" Dutrôchet

Acest „osmometru", care poartă numele botanistului francez R. H. Joachim Dutrôchet (1776—1847), întemeietorul osmometriei, este format dintr-un tub de sticlă alungit și lărgit la un capăt (fig. 1.19). La capătul lui lărgit se leagă strîns o membrană dializantă, foarte bine întinsă (de obicei din bucăți de stomac de porc, bine umectate), după care, cu ajutorul unei pipete, se introduce în el, prin capătul opus, o cantitate de soluție de NaCl 10% pînă la un nivel *0*, care se marchează cu un creion dermatograf sau cu o fișie de hîrtie gumată (fig. 1.19 a); partea inferioară, la care a fost legată membrana, se scufundă într-un cristalizor cu apă distilată și apoi „osmometrul" se fixează la un stativ. Se constată, destul de repede, că nivelul soluției din interior se ridică treptat pînă la un nivel maxim *h* (fig. 1.19 b), care este instabil, astfel că după cîteva ore nivelul începe să scadă pînă cînd lichidele din „osmometru" și din cristalizor ajung în același plan (fig. 1.19 c). În acest moment se stabilește izotonia între cele două compartimente. Această desfășurare a fenomenului se datorește faptului că, la început, soluția din „osmometru" este hipertonică în raport cu apa din cristalizor și ca urmare apa pătrunde prin osmoză în „osmometru" datorită curentului endosmotic, care se manifestă pînă cînd se atinge un echilibru nestabil între presiunea hidrostatică a coloanei de apă și presiunea osmotică de moment. Concomitent însă și ionii de NaCl dializează traversînd membrana și difuzînd în apa din cristalizor. Astfel, datorită pătrunderii apei prin osmoză și ieșirii ionilor prin dializă, soluția din „osmometru" se diluează treptat, iar cea din cristalizor se concentrează, astfel că presiunea hidrostatică a coloanei de lichid devine la un moment dat superioară presiunii osmotice. Începe acum scăderea nivelului soluției din „osmometru"; este curentul exosmotic, care acționează pînă se stabilește izo-

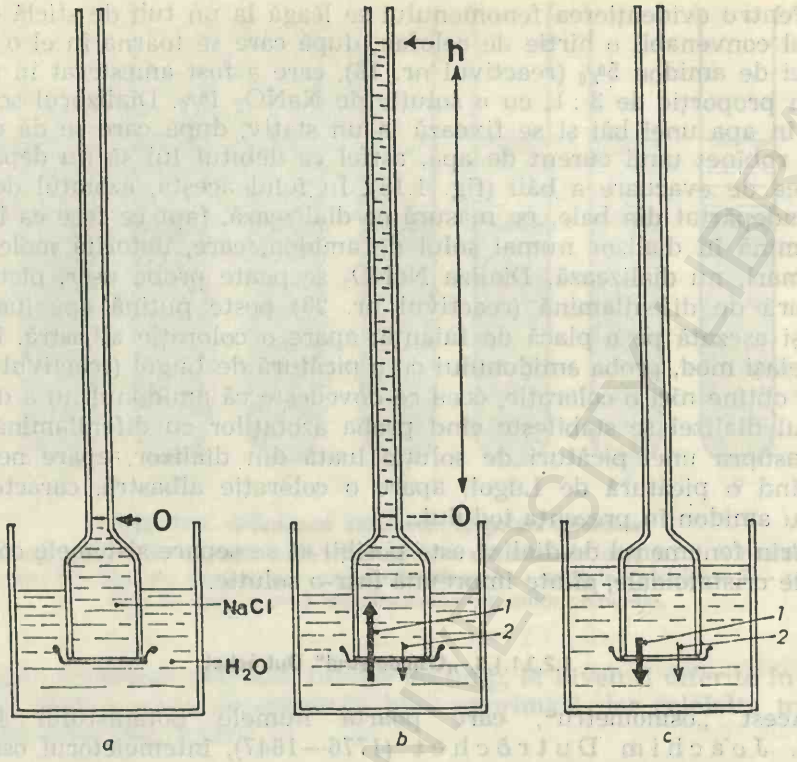


Fig. 1.19. Osmoza și dializa prin membrană dializabilă („osmometrul" Dutrôchet): a – momentul de start al osmozei și dializei (0 – nivelul inițial al soluției din „osmometru"); b – manifestarea curentului endosmotic, cu atingerea echilibrului instabil (0–h, coloana de lichid a cărei presiune hidrostatică determină, la un moment dat, un echilibru instabil între presiunea hidrostatică și cea osmotică); c – manifestarea curentului exosmotic, cu stabilirea echilibrului final de concentrație (mărimea și grosimea săgeților sugerează intensitatea fenomenelor); 1 – curentul de apă prin osmoză; 2 – dializa NaCl.

tonia. Predominarea inițială a curentului endosmotic se explică prin faptul că, la început, moleculele de apă din cristalizor sînt în număr mai mare, la unitatea de volum, decît cele din „osmometru", în care se găsesc și ioni de Na^+ și Cl^-. Ca urmare, energia cinetică a moleculelor de apă din cristalizor este mai mare și loviturile lor pe membrană fiind mai dese, ele străbat mai repede membrana.

Prin urmare, în cazul unei membrane permeabile, ce separă solventul de o soluție cristaloidală, au loc concomitent fenomene de osmoză și dializă. De aceea dispozitivul lui Dutrôchet nu este un osmometru tipic, el neputînd servi la determinarea presiunilor osmotice.

1.2.3.1.1.4. Echilibrul Donnan

Soluțiile cristaloide ajung, prin dializă, la un echilibru osmotic de o parte și de alta a membranei. Coloidele însă, deși dezvoltă presiuni osmotice foarte mici, pot influența starea de echilibru osmotic, provocînd hipertonia mediului intern prin stabilirea echilibrului Donnan, denumit astfel după numele descoperitorului său F., Donnan.

Pentru evidențiere se leagă o membrană dializantă (o bucată de stomac de porc) la capătul unui tub de sticlă mic (în scopul de a folosi puțin colorant) și se introduce în el o soluție de roșu de Congo 0.1 M, adică sarea de sodiu a unui anion coloidal nedializabil. Se astupă tubul cu un dop, care este străbătut de un tub capilar, astfel încît colorantul să se urce în capilar puțin deasupra dopului pînă la nivelul *0* (fig. 1.20 *a*), după care se introduce cu membrana într-o soluție de NaCl 0,1 M, aflată într-un cristalizor. Întrucît ionii de Na^+ și Cl^- pot dializa, soluția din tub devine hipertonică față de cea externă, prin acumularea din exterior în special a cationilor, stabilindu-se un echilibru electrostatic de o parte și de alta a membranei: este echilibrul Donnan sau echilibrul de membrană. Fenomenul se explică astfel: datorită masei moleculare diferite a celor două substanțe (roșul de Congo are masa moleculară de 696,67 și conține numai doi atomi de Na care pot disocia în ioni Na^+, iar NaCl are masa moleculară de 58,44), inițial sînt mai mulți ioni de Na^+ în soluția externă și ei dializează, după legea difuziei, pătrunzînd în tub; în procesul difuziei ionii de semn contrar nu se despart, astfel că, odată cu ionii de Na^+ dializează și cei de Cl^-, care, fiind însă respinși de ionul coloidal nedializabil R^- al substanței din tub, ajung în soluția internă în cantitate mult mai mică. Stabilirea echilibrului Donnan se constată prin urcarea soluției interne la nivelul *h* (fig. 1.20 *b*).

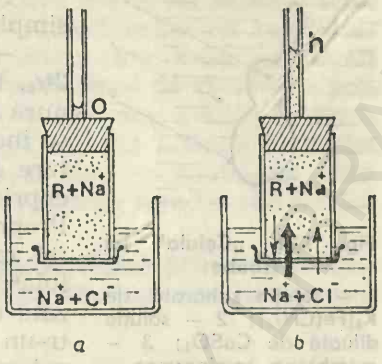


Fig. 1.20. Instalarea hipertoniei interne prin stabilirea echilibrului Donnan:
a – momentul inițial al experimentului; b – momentul final al experimentului (grosimea săgeților sugerează intensitatea dializei).

Stabilirea acestui echilibru reprezintă o anomalie a comportamentului osmotic al celulei, deoarece permite menținerea hipertoniei celulare într-un mediu extern hipertonic, datorită prezenței în sucul celular a unor coloizi nedializabili.

1.2.3.1.2. Osmoza prin membrane semipermeabile

Membranele cu semipermeabilitate strictă nu pot fi străbătute decît de către moleculele de apă, întrucît ele opresc toate particulele dizolvate (faza dispersă), fie cristaloide sau coloide. Difuziunea sau dializa particulelor (ioni sau molecule) este imposibilă prin astfel de membrane.

1.2.3.1.2.1. Membrane semipermeabile artificiale

Membranele semipermeabile artificiale sînt membrane coloidale de precipitare, obținute în urma reacțiilor chimice dintre două substanțe minerale. Ele sînt de mai multe tipuri:

a. *„Celula" lui Traube* (obținută în 1865). Membrana artificială strict semipermeabilă realizată de către L. Traube este un precipitat coloidal de ferocianură cuprică, rezultat în urma reacției dintre sulfatul de cupru și ferocianura de potasiu:

$$2\,CuSO_4 + K_4[Fe(CN)_6] \rightarrow Cu_2[Fe(CN)_6] + 2\,K_2SO_4$$

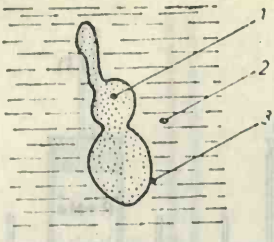


Fig. 1.21. „Celula" lui Traube:

1 – soluție zaharată de $K_4[Fe(CN)_6]$; 2 – soluție diluată de $CuSO_4$; 3 – membrana semipermeabilă.

Această membrană se poate realiza, foarte simplu, în două moduri:

— Se lasă să cadă peste o soluție de $CuSO_4$ 2%, luată într-o eprubetă, o picătură de ferocianură de potasiu solvită în apă zaharată: picătura se înconjoară imediat cu o membrană de precipitare fragilă, de culoare maronie, de ferocianură cuprică, luînd aspectul unei „celule" (fig. 1.21). Proprietatea de semipermeabilitate strictă a acestei membrane a fost dedusă din faptul că „celula" crește văzînd cu ochiul. Creșterea este cauzată de intrarea în „celulă" numai a apei, printr-un curent endosmotic, ceea ce duce la mărirea volumului „sucului celular". Membrana, fiind fragilă, crapă și în locul respectiv ionii celor două substanțe minerale vin din nou în contact și formează un precipitat care astupă crăpătura. Teoretic, procesul continuă pînă se uniformizează concentrațiile celor două soluții, dar aspectul de „celulă" cu membrană dispare cu timpul prin depunerea la fundul eprubetei a unui precipitat lipsit de o formă specifică.

Fig. 1.22. Obținerea „celulei" lui Traube prin scufundarea unui cristal de sulfat de cupru într-o soluție de ferocianură de potasiu:

1 – soluție de $K_4[Fe(CN)_6]$ diluată; 2 – soluție de $CuSO_4$ concentrată; 3 – precipitatul de $Cu_2[Fe(CN)_6]$ cu aspect de membrană; 4 – cristal de $CuSO_4$.

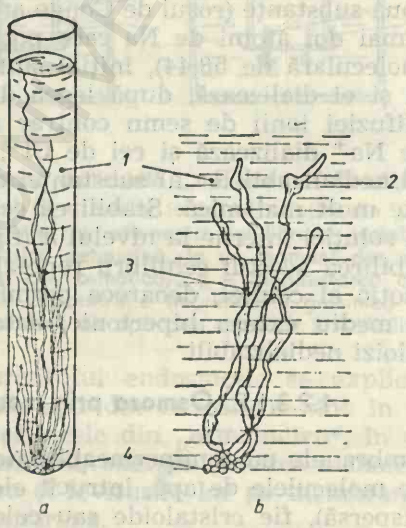


Fig. 1.23. Membrane semipermeabile din silicat feros:

a – aspectul de tufă al tubușoarelor verzui; b – detaliu; 1 – soluție diluată de Na_2SiO_3; 2 – soluție concentrată de $FeSO_4$; 3 – tubușoare verzui în creștere, datorită contactului periodic dintre calaican și silicatul de sodiu; 4 – glomerule din cristale de $FeSO_4$.

— Într-o eprubetă cu ferocianură de potasiu 3% se dă drumul unui cristal de sulfat de cupru. Cristalul se înconjoară imediat cu precipitatul de ferocianură cuprică, cu aspect de membrană, care crește cu timpul sub forma unui deget de mănușă (fig. 1.22). Mecanismul de creștere a precipitatului este același, intrarea endosmotică a apei din soluția de ferocianură de potasiu fiind cauzată de hipertonia soluției interne de sulfat de cupru. Același rezultat se obține și în cazul cînd se inversează ordinea substanțelor, adică prin adăugarea unui cristal de ferocianură de potasiu într-o soluție de sulfat de cupru 3%.

b. O altă membrană semipermeabilă se poate obține prin reacția dintre sulfatul feros (calaican) și silicatul de sodiu, din care rezultă un precipitat verzui de silicat feros:

$$FeSO_4 + Na_2O_4Si \longrightarrow FeO_4Si + Na_2SO_4$$

Pentru obținerea acestei membrane, se dă drumul unui glomerul de cristale mici de calaican într-o soluție de silicat de sodiu (care dacă este prea vîscoasă se diluează în prealabil cu apă). Se formează imediat numeroase tubușoare verzui, ramificate, cu aspect de tufă, datorită faptului că fiecare cristal de calaican, care vine în contact cu silicatul de sodiu, formează un tubușor cu creștere osmotică foarte activă (fig. 1.23). Spre deosebire de precipitatul de ferocianură cuprică, precipitatul de silicat feros își păstrează mult timp forma pe care a luat-o în timpul creșterii. Cu timpul, tubușoarele formate devin roșietice în partea lor superioară, unde a ajuns oxigenul din aer ce s-a dizolvat în apă și care determină oxidarea ferului la Fe^{3+}.

1.2.3.1.2.2. Osmometrul Pfeffer

Precipitatul mineral de ferocianură cuprică, fiind foarte fragil, nu putea să joace rol de membrană separatoare în „osmometrul" Dutrochet. Un alt botanist, W. Pfeffer, s-a gîndit să fixeze acest precipitat pe un cadru solid, format din pereții cu pori fini ai unui vas de porțelan nesmălțuit. În acest scop a înlăturat aerul din porii vasului și a introdus în el o soluție de ferocianură de potasiu, după care l-a scufundat într-o soluție de sulfat de cupru. Întrucît cele două soluții difuzează, moleculele lor se întîlnesc în pori și dau naștere precipitatului de ferocianură cuprică (fig. 1.24). După formarea precipitatului vasul este golit și spălat, după care se astupă cu un dop străbătut de un tub de sticlă prevăzut cu o pîlnie și de un altul ce este atașat, printr-o garnitură de cauciuc, la un manometru cu mercur (fig. 1.25). În acest moment osmometrul este gata pentru a fi folosit la determinarea valorilor presiunilor osmotice ale diferitelor soluții.

Pentru determinare se toarnă în osmometru, prin pîlnie (deschizînd robinetul de la tubul manometrului pentru a permite eliminarea aerului), soluția de cercetat, pînă ce aceasta se ridică puțin deasupra dopului, după care se închid robinetele și se scufundă osmometrul într-un vas cu apă distilată. Întrucît osmometrul posedă o membrană semipermeabilă, are loc numai curentul endosmotic, care determină intrarea apei pînă se consumă întregul potențial osmotic al soluției.

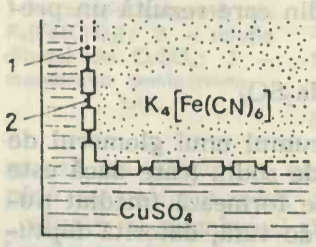


Fig. 1.24. Formarea precipitatului coloidal în porii osmometrului Pfeffer (după Binet și Brunel):

1 — peretele poros al vasului; 2 — precipitatul de $Cu_2[Fe(CN)_6]$.

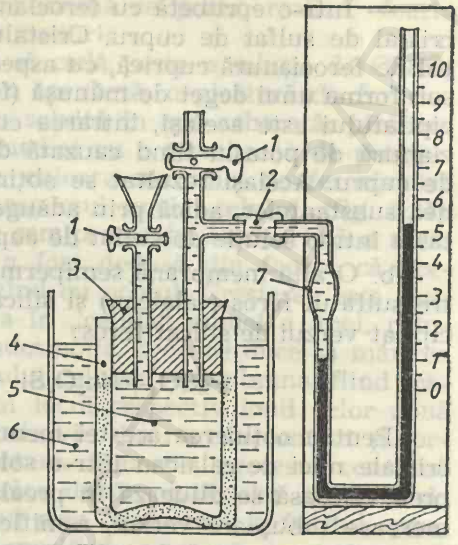


Fig. 1.25. Osmometrul Pfeffer:

1 — robinet; 2 — garnitură de cauciuc; 3 — dop de cauciuc; 4 — vas din porțelan nesmălțuit, în ai cărui pori s-a format precipitatul coloidal semipermeabil cu $Cu_2[Fe(CN)_6]$; 5 — soluția de cercetat; 6 — apă distilată; 7 — manometru cu mercur.

Între o celulă parenchimatoasă matură și osmometrul Pfeffer se pot face următoarele analogii:

— pereții celulozici ai celulei sînt comparabili cu peretele poros al osmometrului, deoarece și ei sînt poroși și au o rigiditate relativă;

— membranele plasmatice, împreună cu protoplasma, se pot compara cu precipitatul de ferocianură cuprică, deoarece și ele sînt semipermeabile, dar nu strict ci relativ, ele putînd fi străbătute, în mod selectiv și de către particulele dizolvate, conform cu cerințele metabolismului;

— sucul vacuolar este comparabil cu soluția din osmometru, deoarece el este o soluție apoasă de substanțe organice și minerale, avînd o anumită concentrație și deci un anumit potențial osmotic; apa pătrunde pe cale osmotică în celulă datorită presiunii osmotice a sucului vacuolar, dar, spre deosebire de osmometru, nu pînă ce se consumă întregul potențial osmotic, ci atît cît îi permite elasticitatea peretelui celular.

În lipsa unui osmometru Pfeffer, se poate construi un osmometru mult mai simplu, dar tot cu membrană semipermeabilă rezistentă. În acest scop se leagă o hîrtie de celofan la capătul mai larg al unui tub de sticlă, asemănător cu un „osmometru" Dutrôchet scurt și cu gît lărgit, după care se toarnă în el, într-un strat de 2—3 mm, o soluție de gelatină 15%. După gelificare se toarnă în tub o soluție de $CuSO_4$ 3% și se scufundă extremitatea lui cu membrana într-o soluție de $K_4[Fe(CN)_6]$ 3% (fig. 1.26). Înainte de întrebuințare se spală osmometrul cu apă distilată, apoi se introduce în el soluția de cercetat, se astupă cu un dop de cauciuc străbătut de un tub lung de sticlă, cu lumenul de circa 4 mm, după care se scufundă cu extremitatea inferioară într-un cristalizor cu apă distilată (fig. 1.27).

Fig. 1.26. Confecționarea unei membrane semipermeabile rezistente:

1 – hîrtie de celofan; 2 – strat de gelatină; 3 – soluție de $K_4[Fe(CN)_6]$; 4 – soluție de $CuSO_4$.

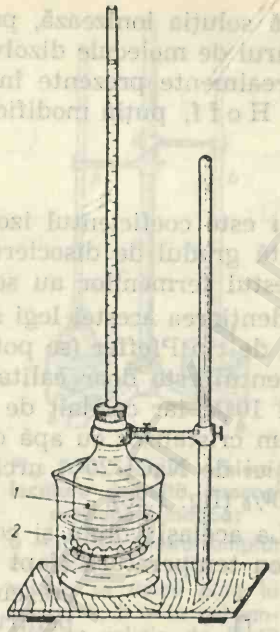


Fig. 1.27. Osmometru simplu de tip Pfeffer:

1 – soluție de NaCl; 2 – apă distilată.

1.2.3.1.2.3. Legile osmozei

Cu osmometrul construit de el, Pfeffer a determinat presiunea osmotică a multor soluții și a studiat legile osmozei. Pe baza cercetărilor sale, ale lui H. de Vries și ale lui Swante Arrhenius, fizicianul Van't Hoff a stabilit că legile gazelor perfecte se aplică și soluțiilor diluate:

a. La temperatură constantă presiunea osmotică este proporțională cu concentrația moleculară a substanței dizolvate, depinzînd deci de numărul de molecule și nu de natura lor (fapt ce concordă cu legea lui Boyle-Mariotte). Astfel, soluțiile molare ale neelectrolitelor dezvoltă aceeași presiune osmotică la 0°C și 760 mm Hg: 22,412 atmosfere. Prin urmare

$$\pi = CRT$$

unde:

π=presiunea osmotică (în atmosfere);

C=concentrația substanței dizolvate (în moli); valoarea lui depinde de raportul $C = \frac{n}{v}$, în care

n=cantitatea de substanță dizolvată (în molecule-gram);

v=volumul soluției (în litri).

R=constanta gazelor perfecte (=0,08207);

T=temperatura absolută (temperatura de moment, în °C, +273).

Dacă soluția ionizează, presiunea osmotică nu mai este determinată de numărul de molecule dizolvate, ci de numărul de particule (ioni și molecule) realmente prezente în soluție. În acest caz se aplică ecuația lui Van't Hoff, puțin modificată:

$$\pi = iCRT,$$

în care i este coeficientul izotonic, dat de relația $i = 1 + \alpha(n-1)$, unde α reprezintă gradul de disociere electrolitică, iar n numărul de ioni disociați. Restul termenilor au semnificația din ecuația precedentă.

Evidențierea acestei legi se realizează ușor, montînd două osmometre identice, de tip Pfeffer (se pot utiliza și „osmometre" Dutrôchet, deoarece experimentul este doar calitativ, demonstrativ), unul conținînd o soluție de NaCl 10%, iar celălalt de 20%. După scufundarea acestor osmometre în cîte un cristalizor cu apă distilată, se constată, în scurt timp, că nivelul soluției de NaCl 20% urcă mai sus decît cel al soluției cu concentrația de 10% (fig. 1.28).

b. La același volum și concentrație, presiunea osmotică este proporțională cu temperatura (fapt ce concordă cu legea lui Gay-Lussac), crescînd cu 1/273 din presiunea inițială la 0°C, pentru fiecare grad Celsius:

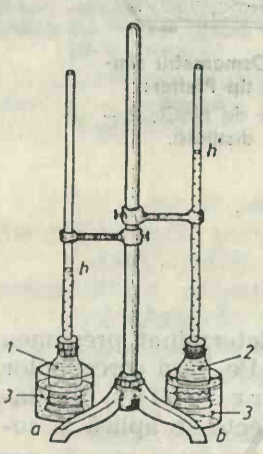


Fig. 1.28. Demonstrarea raportului dintre presiunea osmotică și concentrație:
a – în osmometrul cu soluție de NaCl 10% nivelul soluției se urcă la înălțimea h; b – în cel cu soluția de NaCl 20% nivelul soluției se urcă la înălțimea h':
1 – soluție de NaCl 10%;
2 – soluție de NaCl 20%;
3 – apă.

$$\pi = CRT \qquad \text{sau} \qquad \pi = \frac{n}{v} RT$$

ecuații în care:

T=temperatura absolută (temperatura de moment în grade Celsius, +273);

R=constanta gazelor perfecte (=0,08207), iar ceilalți termeni au semnificația din ecuația de la punctul *a*. Dacă π se exprimă în atmosfere și v în litri, atunci, la 0°C:

$$\pi = C \cdot 0{,}08207 \cdot 273 = 22{,}412 \text{ atmosfere.}$$

Această lege este consecința directă a energiei cinetice a particulelor, care crește odată cu temperatura și se evidențiază montînd două osmometre (de tip Pfeffer sau Dutrôchet) de același volum și umplute cu aceeași soluție (NaCl 10%), unul scufundat într-un cristalizator cu apă aflată la temperatura camerei, iar celălalt într-un cristalizator cu apă încălzită la circa 40°C. Se marchează nivelul inițial al soluțiilor din osmometre și se va constata că, în scurt timp, în osmometrul scufundat în apa încălzită nivelul soluției va fi mai ridicat (fig. 1.29).

c. Soluțiile echimoleculare dezvoltă, la aceeași temperatură, o presiune osmotică egală. Pentru evidențierea acestei legi se iau două osmometre identice (de tip Pfeffer sau Dutrôchet) și într-unul se introduce o cantitate măsurată de soluție de NaCl 1 M (masa moleculară=58,45), iar în celălalt aceeași cantitate de soluție de KCl 1 M (masa

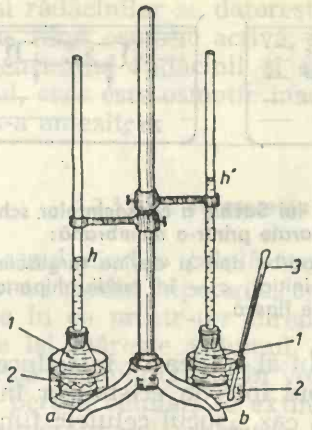


Fig. 1.29. Demonstrarea raportului dintre presiunea osmotică și temperatură:
a — în osmometrul scufundat cu membrana în apă la temperatura de circa 25°C soluția atinge nivelul h; b — în cel aflat în apă la temperatura de circa 40°C soluția ajunge la nivelul h'; 1 — soluția de NaCl 10%; 2 — apă; 3 — termometru.

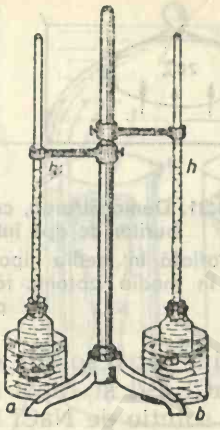


Fig. 1.30. Soluțiile echimoleculare dezvoltă aceeași presiune osmotică:
a — în osmometrul umplut cu soluție de KCl 1 M soluția se ridică pînă la nivelul h; b — în cel umplut cu soluție de NaCl 1 M soluția se ridică tot pînă la nivelul h.

moleculară=74,55). Se marchează nivelul soluțiilor în cele două osmometre și, prin observații periodice, se constată că nivelul lor se va ridica cu aceeași valoare în ambele osmometre (fig. 1.30).

1.2.3.1.2.4. Consecința legilor osmozei

În schimburile de apă dintre două soluții separate printr-o membrană semipermeabilă se pot ivi următoarele situații:

— dacă cele două soluții au aceeași presiune osmotică, nu au loc schimburi de apă între ele, soluțiile fiind izotonice;

— dacă cele două soluții au presiuni osmotice diferite, schimburile de apă sînt reglate de rezultanta dintre presiunile osmotice ale celor două soluții, apa trecînd din compartimentul cu presiune osmotică mai mică (mediu hipotonic) în compartimentul cu presiune osmotică mai ridicată (mediu hipertonic).

Schimburile de apă între medii de tonicitate diferită se pot evidenția și cu ajutorul membranelor permeabile, folosind așa numitele „celule" ale lui J. Sachs. Ele se confecționează tăind dintr-un intestin de porc trei tuburi, lungi de circa 10 cm, care se leagă cu o sfoară la un capăt. După această operație, se introduce într-unul din tuburi o soluție de NaCl 20% și se leagă apoi la celălalt capăt, captînd în interior soluția. Se clătește apoi tubul cu apă și se introduce într-un cristalizor care conține o soluție de NaCl 5%. În al doilea tub se introduce, în același mod, o soluție de NaCl 10%, după care se plasează tubul într-un cristalizor

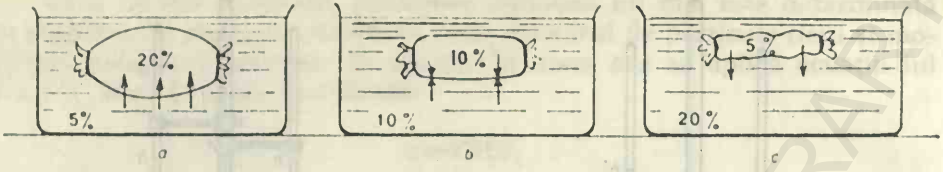


Fig. 1.31. Demonstrarea, cu ajutorul „celulei" lui Sachs, a consecințelor schimburilor de apă între două soluții separate printr-o membrană:
a — aflată în mediu hipotonic „celula" absoarbe apă și devine turgescentă; b — în mediu izotonic rămîne la volumul inițial; c — în mediu hipertonic pierde apă și devine flască.

care conține tot o soluție de NaCl 10%. În al treilea se introduce o soluție de NaCl 5% și apoi se plasează tubul într-un cristalizor în care se găsește o soluție de NaCl 20%. În primul caz, „sucul celulei" fiind hipertonic față de mediu, apa va intra în „celulă" și aceasta își va mări volumul, devenind turgescentă. În al doilea caz „sucul" și soluția externă sînt izotonice, astfel că „celula" rămîne la volumul inițial. În ultimul caz „celula" se găsește în mediu hipertonic și ea va pierde apa și va deveni flască (fig. 1.31).

1.2.3.1.3. Caracterul osmotic al schimburilor de apă între celule și mediu

Caracterul osmotic al schimburilor de apă dintre celule și mediu constă în manifestarea fenomenelor de turgescență și plasmoliză, care depind direct de tonicitatea mediului intern al celulei. Tonicitatea sucului vacuolar este în funcție de prezența în el a așa-numitelor substanțe osmotic active.

1.2.3.1.3.1. Substanțe osmotic active și osmotic inactive

Sucul vacuolar este o soluție apoasă în care sînt dizolvate particule (ioni și molecule) de substanțe minerale și de substanțe organice (zaharuri simple, acizi organici, taninuri, glucozizi, acizi aminici etc.), care, avînd dimensiuni mici, măresc concentrația soluției și ca urmare „atrag" apa. Ele sînt substanțele osmotic active. Substanțele organice cu moleculă mare, cum sînt proteinele și amidonul, contribuie puțin la concentrația soluției și nu „atrag" apa. Ele sînt substanțe osmotic inactive.

Pentru evidențierea substanțelor osmotic active și a celor osmotic inactive, se decapitează două rădăcini de morcov, se excavează pe o adîncime de circa 3 cm de la nivelul suprafeței de secțiune rezultată în urma decapitării, după care într-una din excavații se introduce amidon, iar în cealaltă zaharoză. Se așază apoi rădăcinile în poziție verticală în cîte un pahar Berzelius și se acoperă cu un clopot de sticlă, pentru a le menține într-o atmosferă izolată. După cîtva timp se va constata că rădăcina în a cărei excavație s-a introdus zaharoză se zbîrcește și zaharoza din excavație se dizolvă trecînd în stare de soluție, iar rădăcina în a cărei excavație s-a introdus amidon nu prezintă nici o modificare (fig. 1.32). Acest

aspect al rădăcinilor se datorește faptului că zaharoza, fiind osmotic activă, a „atras" apa din parenchimul rădăcinii și s-a solvit, iar amidonul, care este osmotic inactiv, nici măcar nu s-a umezit.

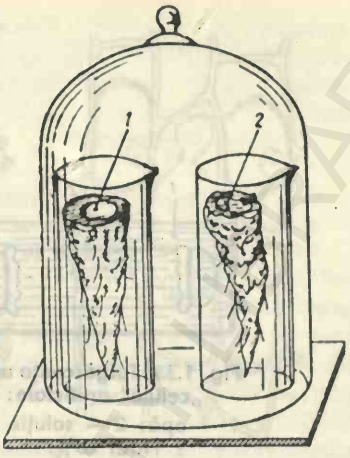


Fig. 1.32. Evidențierea substanțelor osmotic inactive și osmotic active:

1 — rădăcina în a cărei excavație s-a introdus amidon rămîne neschimbată; 2 — rădăcina în a cărei excavație s-a introdus zaharoză se zbircește, deoarece substanța se dizolvă, atrăgînd apa din țesuturile organului.

1.2.3.1.3.2. Turgescența

În cazul cînd o celulă vegetală vie se află într-un mediu hipotonic, apa din mediu pătrunde în ea printr-un curent endosmotic și celula își mărește volumul, ca urmare a faptului că vacuola crește în volum și a faptului că pereții celulari se extind ușor. Elasticitatea membranei scheletice este însă redusă, fapt ce face ca ea să exercite o contrapresiune din ce în ce mai mare asupra conținutului celular. Aceasta este presiunea membranei scheletice, care imprimă celulei o stare de rigiditate, de tensiune, care a primit denumirea de turgescență (de la cuvîntul *turgere*, care în limba latină înseamnă a umfla). Pe măsură ce turgescența tinde către valoarea maximă, intrarea apei în celulă, datorită forței osmotice, se face din ce în ce mai încet, pînă se atinge un echilibru, ca urmare a faptului că presiunea membranei scheletice asupra conținutului celular devine egală, în valoare absolută, cu presiunea de turgescență, de sens invers. În momentul atingerii acestui echilibru starea de turgescență devine maximă și mișcarea apei se oprește. Aceasta este starea normală a celulelor vegetale bine aprovizionate cu apă, care oferă o mare rigiditate țesuturilor, permițînd portul erect al plantelor ierboase și portul caracteristic al frunzelor și ramurilor tinere de la plantele lemnoase.

Evidențierea turgescenței se poate face prin următoarele experimente:

a. La capătul unui tub de sticlă, lung de circa 6—7 cm și cu diametrul de circa 2 cm, se leagă o membrană permeabilă și după ce se umple tubul pînă la refuz cu o soluție de NaCl 20%, se leagă și la celălalt capăt al lui o membrană asemănătoare, obținînd astfel o „celulă" artificială, care se scufundă într-un cristalizor cu apă. În timp, va avea loc o pătrundere activă a apei în „celulă", fapt ce determină tensionarea puternică a membranelor, care se bombează în afară (fig. 1.33). Dacă se înțeapă una dintre membrane cu un ac, soluția din interiorul tubului țîșnește, fapt ce demonstrează că se afla sub presiunea membranelor.

b. În cazul celulelor vii, turgescența se poate evidenția folosind un scap de *Taraxacum officinale*. Despicînd, pe o oarecare distanță, baza scapului în patru, se constată că cele patru fîșii se curbează în afară (fig. 1.34 *a*). Dacă se introduce baza acestui scap într-un vas cu apă, ele se curbează și mai mult (fig. 1.34 *b*), iar dacă se scufundă într-o soluție hipertonică de NaCl 20%, fîșiile revin cu timpul la poziția pe care au avut-o înainte de secționarea bazei scapului, sau chiar se curbează puțin invers (fig. 1.34 *c*). Această comportare se explică în modul următor: în

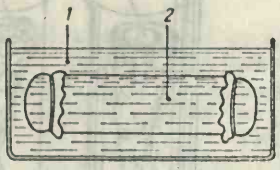


Fig. 1.33. Turgescența unei „celule" artificiale:
1 – apă; 2 – soluție de NaCl 20%.

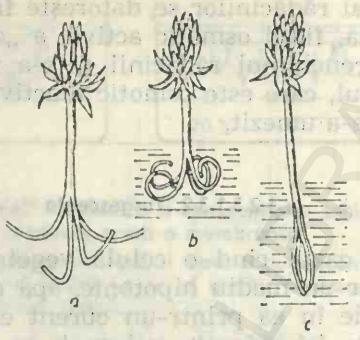


Fig. 1.34. Manifestarea turgescenței în țesuturile unui scap de păpădie:
a – în aer; b – în apă; c – în soluție hipertonică.

primul caz fîșiile se curbează puțin pentru că celulele interne ale scapului conțin ceva mai multă apă decît celulele externe (evaporarea apei din ele fiind împiedicată de tensiunea vaporilor de apă din lacuna axială a scapului), astfel încît în momentul cînd tensiunea dintre țesuturi este înlăturată prin tăiere, ele se alungesc; în cel de-al doilea caz turgescența celulelor interne, ai căror pereți externi sînt mai subțiri, devine și mai pronunțată, încît ele se alungesc și mai mult, iar în ultimul caz celulele interne, care sînt mai permeabile, pierd mai multă apă.

1.2.3.1.3.3. Plasmoptiza

Prin plasmoptiză se înțelege crăparea celulelor în cazurile cînd sînt puse în medii puternic hipotonice în raport cu condițiile lor de viață. Fenomenul se poate manifesta la algele marine în cazul cînd sînt introduse în apă dulce. Întrucît membrana celulozică a celulelor lor are o extensibilitate foarte redusă, iar sucul lor vacuolar este puternic hipertonic, pereții celulelor plesnesc și conținutul acestor celule iese afară. La producerea fenomenului de plasmoptiză contribuie, fără îndoială, în mare măsură și forțele de imbibiție ale coloizilor protoplasmatici. Acest fenomen se produce și în cazul cînd celulele unor plante de apă dulce sînt trecute în alcool, întrucît acesta pătrunde foarte repede în celule.

Pentru evidențierea plasmoptizei, se introduc cîteva filamente de *Spirogyra* într-o picătură de alcool metilic 50% (reactivul nr. 12), luată pe o lamă de sticlă, se acoperă cu lamela și se observă la microscop. Se va constata că unele celule plesnesc și aruncă în afară conținutul lor.

1.2.3.1.3.4. Plasmoliza

În cazul cînd celulele vegetale sînt plasate într-un mediu hipertonic, apa iese din ele printr-un curent exosmotic, turgescența lor dispare, apoi plasmalema începe să se desprindă de pereții celulari, mai întîi la unghiurile celulei (plasmoliza incipientă), apoi și în alte zone (plasmoliza concavă) și apoi aproape total (plasmoliza finală sau convexă). În

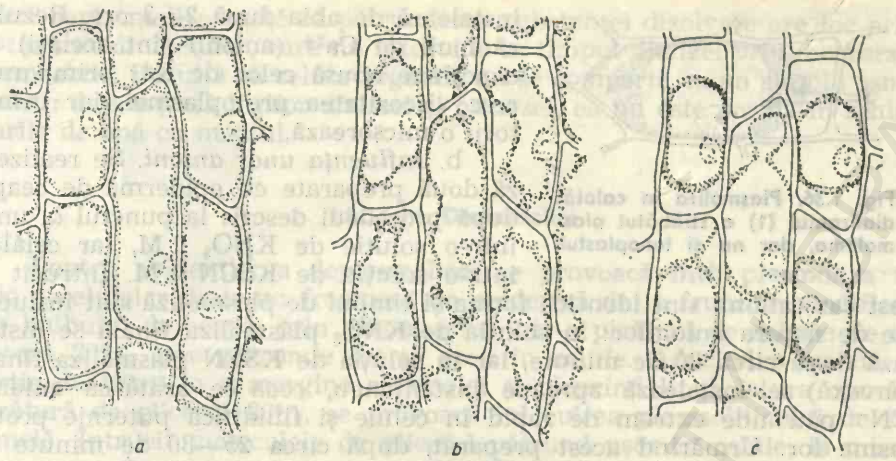


Fig. 1.35. Formele plasmolizei:
a – plasmoliză incipientă; b – plasmoliză concavă; c – plasmoliză convexă (se văd firele lui Hecht).

stadiul de plasmoliză convexă protoplasma este contractată în jurul vacuolei, rămînînd, uneori, în contact cu pereții celulari prin niște filamente fine (firele lui H e c h t). Vacuola este puternic deshidratată și adesea se fragmentează în vacuole mici (fig. 1.35).

Pentru evidențiere se taie o porțiune mică din epiderma inferioară a unei frunze modificate dintr-un bulb de *Allium cepa*, se întinde bine pe o lamă de sticlă într-o picătură de KNO_3 1 M, se acoperă cu lamela și se examinează la microscop. Se va constata că plasmoliza totală se instalează după aproximativ 20 de minute, trecînd prin fazele descrise. Observația este mult ușurată în cazul cînd celulele sînt colorate în prealabil cu roșu neutru, sau în cazul cînd se folosesc epiderme de la plante care conțin antocian în vacuole (ceapă roșie, petale de *Anemone* etc.).

1.2.3.1.3.4.1. *Influența electroliților asupra formei și timpului de plasmoliză*

Forma și timpul de plasmoliză sînt în funcție de starea de hidratare a protoplasmei, precum și de particularitățile microstructurale ale membranelor plasmatice. Acestea pot fi influențate și de prezența în celule a unor ioni minerali, veniți din exterior, ceea ce demonstrează că semipermeabilitatea membranelor biologice nu este strictă, ci selectivă.

Influența electroliților asupra formei și timpului de plasmoliză se poate evidenția prin următoarele experimente:

a. *Influența unor cationi.* Se montează simultan pe cîte o lamă de microscopie, într-o picătură de soluție de KNO_3 1 M și în alta de $Ca(NO_3)_2$ 0,7 M, cîte un segment de epidermă luat de pe fața inferioară a frunzelor modificate ale bulbului de ceapă, se acoperă cu lamela și se observă la microscop. Se va constata că în soluția de KNO_3 după circa 3 minute se instalează plasmoliza concavă, iar după circa 20 de minute cea finală. În soluția de $Ca(NO_3)_2$ plasmoliza concavă, foarte pronunțată, se menține aproape o oră, iar plasmoliza totală, la majoritatea celulelor, se

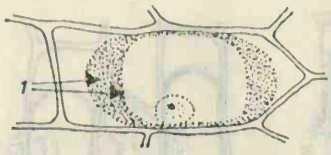


Fig. 1.36. Plasmoliza în calotă: dializantul (1) a străbătut plasmalema, dar nu și tonoplastul.

instalează de abia după 2—3 ore. Rezultă că ionii de Ca^{2+} (anionii sînt aceiași) au o acțiune opusă celor de K^+: primii măresc viscozitatea protoplasmei, iar următorii o micșorează.

b. *Influența unor anioni.* Se realizează două preparate cu epidermă de ceapă, după procedeul descris la punctul *a*, unul într-o soluție de KNO_3 1 M, iar celălalt într-o soluție de KSCN 1 M. Întrucît în acest caz cationii sînt identici, forma și timpul de plasmoliză sînt influențate de natura anionilor: în soluția de KNO_3 plasmoliza finală se instalează după circa 20 de minute, iar în soluția de KSCN plasmoliza finală (convexă) se instalează aproape instantaneu, ceea ce arată că anionul SCN^- pătrunde extrem de rapid în celule și fluidifică puternic protoplasma lor. Urmărind acest preparat, după circa 25—30 de minute se observă o creștere a protoplasmei celulelor sub formă de calotă, de o parte și de alta a vacuolei, fără ca volumul acesteia să se modifice (fig. 1.36). Aceasta dovedește că plasmoliticul a traversat plasmalema, dar nu și tonoplastul: este plasmoliza în calotă.

1.2.3.1.3.5. Citoriza

Nu totdeauna lipsa plasmolizei indică moartea celulelor vegetale. Așa se întîmplă în cazul citorizei, prin care se înțelege ridarea celulelor, în speță ridarea membranelor lor celulozice. Această încreștire a membranelor este cauzată de ieșirea exosmotică a apei, cu micșorarea volumului celular, dar fără desprinderea plasmalemei de pereți.

Pentru evidențierea citorizei se introduc cîteva frunze de briofite *(Fumaria, Mnium)* într-o sticlă de ceas care conține o soluție de zaharoză 30%. După 1—2 ore se compară la microscop frunzele din soluție cu cele martor. Se va constata că celulele frunzișoarelor care au fost ținute în soluție sînt mai mici și au membranele scheletice ridate (fig. 1.37).

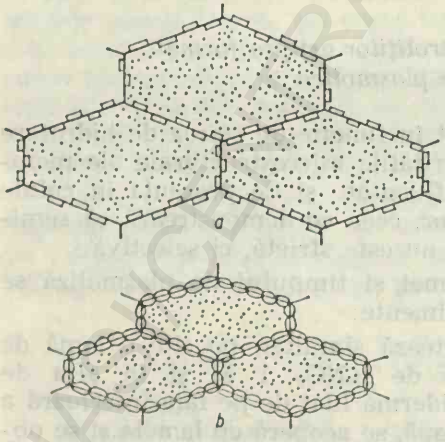


Fig. 1.37. Reprezentarea schematică a citorizei la celulele de Mnium:
a – în mediu hipotonic celulele au aspect normal; b – în mediu hipertonic sînt micșorate și au pereții încreștiți.

1.2.3.1.4. Caracterul neosmotic al schimburilor de apă între celule și mediu

Membranele biologice nu sînt strict semipermeabile, ele putînd fi străbătute uneori și de către particulele dizolvate, în mod normal, ca urmare a cerințelor metabolismului. Pătrunderea substanței dizolvate poate determina hipertonia sucului vacuolar și restabilirea rapidă a turgescenței: este fenomenul de deplasmoliză. Rapiditatea cu care se insta-

lează deplasmoliza arată că pătrunderea substanței dizolvate are loc printr-un travaliu celular, care nu intervine în timpul dializei prin membrane permeabile. Rezultă că celula vegetală nu se comportă ca un simplu osmometru: deși supusă legilor dializei și osmozei, ea nu este pasivă în schimburile de apă cu mediul.

1.2.3.1.4.1. Deplasmoliza

Pentru evidențierea deplasmolizei se provoacă întîi plasmoliza totală a celulelor dintr-un fragment de epidermă de la frunzele modificate ale bulbului de ceapă, prin plasarea lui într-o picătură de soluție de zaharoză 20%, care pătrunde foarte greu în celule. Aducînd o bucată de hîrtie de filtru la o margine a lamelei și picurînd lîngă latura opusă o picătură de glicerol 20%, se provoacă înlocuirea plasmoliticului de sub lamelă. Întrucît moleculele de glicerol pătrund ușor în celule, la microscop se va observa creșterea treptată a volumului vacuolelor (sau a protoplastului plasmolizat), ceea ce cu timpul duce la refacerea turgescenței celulelor.

1.2.3.1.5. Măsurarea presiunii osmotice a sucului celular

Cunoașterea valorii presiunii osmotice are nu numai o importanță teoretică, ci și o importanță practică întrucît oferă indicii asupra gradului de aprovizionare cu apă a plantelor, a cărui cunoaștere este deosebit de importantă în cazul plantelor agricole cultivate în condiții de irigare. Ideal ar fi ca determinarea presiunii osmotice a sucului celular să se efectueze cu ajutorul osmometrului Pfeffer, dar este greu de obținut suc celular în cantități corespunzătoare. De aceea se recurge la procedee indirecte, care pot fi fizice și biologice. Procedeele biologice utilizează material viu, iar cele fizice suc stors din plante (deci nu un suc vacuolar pur), care se obține prin mortificarea materialului și stoarcerea lui. Mortificarea este necesară pentru a se mări permeabilitatea structurilor biologice, astfel ca să se obțină sucul celular cît mai ușor și cît mai nealterat.

1.2.3.1.5.1. Determinarea concentrației sucului celular prin procedeul refractometric

Concentrația sucului vacuolar poate oferi indicii asupra valorii presiunii osmotice și a forței de sucțiune a țesuturilor vegetale, la momentul dat.

Pentru obținerea sucului celular se introduce materialul vegetal de cercetat (de obicei frunze, care trebuie recoltate totdeauna de la mai multe plante și de la același etaj) într-o eprubetă care conține puțină vată îmbibată cu eter și se astupă cu un dop. În scurt timp frunzele se întunecă la culoare, semn că au fost omorîte. Stoarcerea sucului celular se poate realiza, în cazul cînd materialul este mai suculent, prin strivirea lui cu degetele, sau, în cazul cînd materialul este mai uscat, prin folosirea unei prese (fig. 1.38). Pentru stoarcerea sucului celular, se curăță bine presa, se spală cu apă distilată și se lasă să se usuce. Extragerea

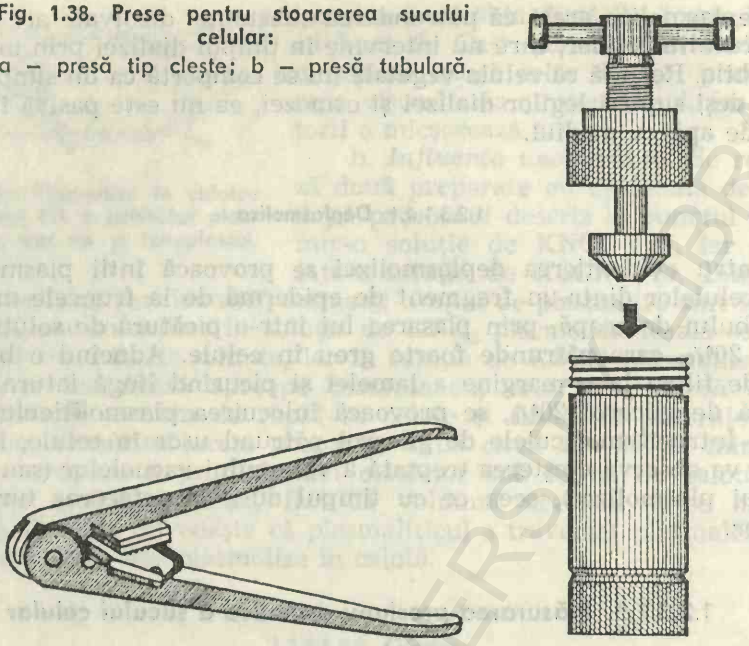


Fig. 1.38. Prese pentru stoarcerea sucului celular:
a – presă tip cleşte; b – presă tubulară.

sucului cu presa cleşte se face în modul următor: se pune materialul vegetal, mărunţit şi amestecat, între cele două plăci zimţate ale presei, ţinînd presa cu vîrful în jos şi se presează, apropiind prin strîngere mînerele ei; după prima presare se răsucește materialul vegetal între plăcuţele presei şi se presează din nou. Sucul obţinut prin aceste presări se colectează într-o eprubetă. În cazul cînd se foloseşte presa tubulară, materialul vegetal se introduce în cilindrul acesteia, se fixează apoi pistonul la cilindru şi prin înşurubarea lui se exercită o apăsare asupra ţesutului.

Determinarea concentraţiei sucului obţinut se face cu ajutorul unui refractometru, după procedeul descris în paragraful 10.2.

1.2.3.1.5.2. Determinarea presiunii osmotice prin procedeul plasmolizei incipiente (după H. de Vries)

Determinările se fac pe celule intacte, fapt ce face ca acest procedeu să fie cel mai corect şi, în acelaşi timp, cel mai rapid. Ca plasmolitic se foloseşte o soluţie de zaharoză ale cărei molecule pătrund greu în celule, iar ca material biologic epiderma inferioară a frunzelor modificate ale bulbului de ceapă.

Se pregătesc, conform procedeului prezentat în tabelul 1.9, pornind de la o soluţie de zaharoză 1 M, soluţii cu concentraţiile de 0,46; 0,48; 0,50; 0,51; 0,52 şi 0,53 M, care se iau în volume de cîte 10 ml şi se pun fiecare în cîte o sticlă de ceas. Se scufundă apoi în fiecare soluţie segmente de epidermă provenite de la aceeaşi frunză şi de pe aceeaşi paralelă, se acoperă sticlele de ceas pentru a împiedica evaporaţia, se marchează notînd pe ele concentraţiile soluţiilor şi se lasă în repaus timp de o oră. Se examinează apoi fiecare fragment de epidermă la microscop, pentru a depista în care dintre soluţii cel puţin 50% din celule se gă-

sesc în stadiul de plasmoliză incipientă. Soluția respectivă se consideră ca fiind izotonică cu sucul vacuolar. Soluțiile în care nu se vede nici un început de plasmoliză sînt hipotonice față de sucul vacuolar, iar cele în care se produce o plasmoliză mai avansată sînt considerate hipertonice.

Calculul pentru aflarea presiunii osmotice a sucului vacuolar se face după relația:

$$\pi = CRT,$$

în care

π=presiunea osmotică a celulelor (în atmosfere);

C=concentrația soluției izotonice cu sucul vacuolar (în moli);

R=constanta gazelor perfecte (=0,08207);

T=temperatura în scară absolută (=273+temperatura de lucru în laborator).

TABELUL 1.9

Pregătirea soluțiilor de zaharoză necesare pentru determinarea presiunii osmotice prin procedeul plasmolizei incipiente

Concentrația soluțiilor de pregătit (M)	Mod de pregătire	
	ml soluție de zaharoză 1 M	ml apă distilată
0,46	4,6	5,4
0,48	4,8	5,2
0,50	5,0	5,0
0,51	5,1	4,9
0,52	5,2	4,8
0,53	5,3	4,7

Acest procedeu nu oferă totuși date riguros exacte, deoarece celulele aflate în stare de plasmoliză incipientă au pierdut o oarecare cantitate de apă. Ca urmare, presiunea osmotică obținută prin calcul este ceva mai mare decît cea reală.

1.2.3.1.6. Măsurarea forței de sucțiune a celulelor vegetale

Apa pătrunde în celulele vegetale ca și cum ar fi suptă de o forță, ce a fost denumită (după A. Ursprung și G. Blum) forță de sucțiune. Forța de sucțiune S este determinată de diferența existentă la un moment dat între presiunea osmotică π și presiunea de turgescență T:

$$S = \pi - T$$

O celulă a cărei S=0, se găsește în echilibru cu presiunea parțială a vaporilor de apă H saturați la temperatura dată; în cazul cînd $S \neq 0$, hidratura celulei este mai mică și se găsește în echilibru cu o presiune parțială a vaporilor de apă h, inferioară lui H. Ca urmare, forța de sucțiune a celulelor poate fi exprimată și prin diferența H—h, adică prin deficitul presiunii de difuzie (DPD).

Determinarea forței de sucțiune a celulelor vegetale se poate face prin următoarele procedee:

a. *Procedeul volumetric.* Acesta constă în plasarea unor fragmente de organe sau de țesuturi într-o serie de soluții cu presiuni osmotice cunoscute, pentru stabilirea soluției în care volumul materialului vegetal rămîne constant. Presiunea osmotică a acestei soluții este egală cu DPD al materialului vegetal și se exprimă în atmosfere.

Varianta Pringsheim. Se iau şase eprubete şi se toarnă în fiecare din ele cîte 10 ml dintr-una din următoarele lichide: în prima apă distilată, în a doua o soluţie 0,2 M, în a treia o soluţie 0,4 M, în a patra o soluţie 0,6 M, în a cincea o soluţie 0,8 M şi în a şasea o soluţie 1 M de zaharoză, care se pregătesc, pornind de la o soluţie de zaharoză 1 M, după procedeul prezentat în tabelul 1.10. După pregătirea soluţiilor se agită conţinutul eprubetelor şi se introduce în fiecare dintre ele cîte o carotă de 30—50 mm lungime, scoasă dintr-un tubercul de cartof cu ajutorul unui perforator de dopuri. Se impune ca toate carotele să aibă riguros aceeaşi lungime şi să fie scoase din acelaşi tubercul. După 12 ore de imersie, se scot carotele din soluţie, se tamponează uşor cu hîrtie sugativă şi se măsoară cu şublerul. În soluţiile hipotonice lungimea carotelor va fi mărită, în cele hipertonice micşorată, iar în soluţia izotonică dimensiunea carotei va rămîne constantă. Datele obţinute se trec într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 1.11. Valoarea forţei de sucţiune va fi egală cu presiunea osmotică a soluţiei izotonice şi se calculează cu ajutorul relaţiei:

$$S=CRT,$$

în care

S=forţa de sucţiune a materialului vegetal (în atmosfere);

C=concentraţia soluţiei izotonice (în moli);

R=constanta gazelor perfecte (=0,08207);

T=temperatura în scară absolută (=273+temperatura de lucru din laborator).

În cazul cînd nu se va găsi o soluţie izotonică, pentru valoarea lui C din formula de calcul se va lua media concetraţiei (în moli) celor

TABELUL 1.10

Pregătirea soluţiilor de zaharoză necesare pentru determinarea forţei de sucţiune a ţesuturilor vegetale după procedeul Pringsheim

Concentraţia soluţiei de zaharoză (M)	Mod de pregătire	
	ml soluţie de zaharoză 1 M	ml apă distilată
0	—	10
0,2	2	8
0,4	4	6
0,6	6	4
0,8	8	2
1,0	10	—

TABELUL 1.11

Determinarea valorii forţei de sucţiune a ţesuturilor vegetale după procedeul Pringsheim

Concentraţia soluţiei de zaharoză (M)	Lungimea iniţială a fragmentelor de ţesut (mm)	Lungimea finală a fragmentelor de ţesut (mm)	Diferenţa de lungime (mm)
0			
0,2			
0,4			
0,6			
0,8			
1,0			

două soluții învecinate, în care într-una materialul vegetal și-a mărit iar în cealaltă și-a micșorat lungimea față de cea inițială.

b. *Procedeul gravimetric.* Principiul este același ca în cazul procedeului volumetric (v. paragraful 1.2.3.1.6 a) și montarea experimentului se face exact în același mod. Deosebirea constă în faptul că soluția izotonică se stabilește prin cîntărirea inițială și finală a carotelor de țesut. În soluțiile în care masa materialului vegetal crește s-a produs o absorbție de apă, în cele în care scade s-a produs o pierdere de apă de către materialul vegetal, iar în soluția în care masa lui rămîne constantă nu s-a manifestat nici un schimb de apă între țesut și soluție. Deci, forța de sucțiune a materialului vegetal va fi egală cu presiunea osmotică a soluției izotonice. Datele obținute se trec într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 1.12, iar calcularea valorii forței de sucțiune se face cu ajutorul relației prezentate în paragraful 1.2.3.1.6 a. În cazul cînd nu se va găsi o soluție izotonică, pentru valoarea lui C din formula de calcul se va lua concentrația soluției în care masa materialului vegetal s-a modificat cel mai puțin față de valoarea ei inițială.

TABELUL 1.12

Determinarea valorii forței de sucțiune a țesuturilor vegetale după procedeul gravimetric

Concentrația soluției de zaharoză (M)	Masa inițială a fragmentelor de țesut (g)	Masa finală a fragmentelor de țesut (g)	Diferența de masă (g)
0			
0,2			
0,4			
0,6			
0,8			
1,0			

c. *Procedeul refractometric (Arțihovski).* Principiul acestui procedeu constă în stabilirea variațiilor concentrației unor soluții în care a stat materialul cercetat: dacă materialul pierde apă în contact cu soluția, concentrația și indicele de refracție al soluției respective se diminuează, iar în caz contrar crește. Procedeul constă deci în a găsi soluția care, în contact cu materialul vegetal, nu și-a modificat valoarea indicelui de refracție sau a concentrației. Concentrația ei este practic egală cu cea a sucului vacuolar din celulele țesutului. Cunoscînd aceasta, se poate calcula, în atmosfere, DPD-ul țesutului.

Pentru determinare se introduc în 11 eprubete cîte 10 ml dintr-unul din următoarele lichide: în prima apă distilată, iar în celelalte soluții de zaharoză de 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9 și 1 M, care se prepară după modelul prezentat în tabelul 1.13. După agitarea conținutului lor, din fiecare eprubetă din acest șir (șirul I) se iau cîte 2 ml de soluție, care se trec în alte 11 eprubete, obținîndu-se deci o a doua serie de diluții (șirul II). Se introduce apoi în fiecare eprubetă din șirul II aceeași cantitate de material vegetal (cîte 10 rondele scoase cu un perforator de dopuri din frunze de *Pelargonium* sau de alte plante), care se lasă să stea în soluții timp de o oră. Între timp se determină cu ajutorul unui refractometru (după procedeul descris la paragraful 10.2) concentrația, în procente de zaharoză, fiecărei soluții din șirul I de eprubete, notînd-o într-

TABELUL 1.13

Pregătirea soluțiilor de zaharoză necesare pentru determinarea forței de sucțiune a țesuturilor vegetale după procedeul refractometric

Concentrația soluției de zaharoză (M)	Mod de pregătire	
	ml soluție de zaharoză 1 M	ml apă distilată
0	—	10
0,1	1	9
0,2	2	8
0,3	3	7
0,4	4	6
0,5	5	5
0,6	6	4
0,7	7	3
0,8	8	2
0,9	9	1
1,0	10	—

TABELUL 1.14

Variațiile procentuale ale concentrației soluțiilor de zaharoză în prezența fragmentelor de țesut

Soluțiile de zaharoză pregătite (M)	Concentrația inițială (%)	Concentrația finală (%)	Diferența de concentrație[1] (%)
0			
0,1			
0,2			
0,3			
0,4			
0,5			
0,6			
0,7			
0,8			
0,9			
1,0			

[1] Diferențele de concentrație se notează cu semnele + sau — în fața valorilor calculate.

un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 1.14. După o oră se determină, în același mod, concentrațiile soluțiilor din șirul II de eprubete, notîndu-le, de asemenea, în tabel. Se va constata că unele concentrații se diluează deoarece au fost hipertonice, iar altele se măresc pentru că au fost hipotonice; soluția în care nu se înregistrează nici o variație de concentrație este considerată izotonică cu concentrația sucurilor vacuolare ale celulelor țesutului.

Valoarea forței de sucțiune a materialului analizat se calculează cu ajutorul relației prezentată în paragraful 1.2.3.1.6. a. În cazul cînd nu se va găsi o soluție izotonică, pentru valoarea lui C din formula de calcul se va lua concentrația soluției (în moli) care s-a modificat cel mai puțin în contact cu materialul vegetal.

d. *Procedeul curenților (Șardakov).* Principiul acestui procedeu și modul de lucru sînt aceleași ca și în cazul procedeului refractometric

(v. paragraful 1.2.3.1.6. c), cu deosebire că determinarea concentrației soluțiilor în care au stat probele de țesut se face prin compararea densității lor cu densitatea soluțiilor inițiale corespunzătoare din șirul I de eprubete. În acest scop, se colorează, introducînd în ele cîteva cristale de albastru de metilen, soluțiile din șirul II de eprubete, după care se ia cu ajutorul unei pipete Pasteur o coloană de 10—15 cm de lichid din prima eprubetă cu material vegetal și, scufundînd-o cu vîrful pînă la mijlocul coloanei de soluție din eprubeta corespunzătoare din șirul I, se lasă o picătură (ca în figura 1.39) în mijlocul coloanei de soluție și se urmărește sensul ei de deplasare. Se repetă, în continuare, această operație și cu celelalte eprubete pentru a găsi soluția izotonică cu materialul vegetal. Picătura luată din această soluție va rămîne în soluția inițială corespunzătoare din șirul I de eprubete în locul în care a fost depusă. Spre deosebire de acest caz, în soluțiile hipotonice (care se concentrează în urma schimbului osmotic cu materialul vegetal și își măresc concentrația) picătura se va deplasa în jos, iar în cele hipertonice (care își micșorează densitatea în urma schimbului osmotic cu materialul vegetal) picătura se va deplasa în sens ascendent. Se notează într-un tabel, întocmit după modelul prezentat în tabelul 1.15, sensul de deplasare a picăturilor. Calcularea valorii forței de sucțiune se face cu ajutorul formulei prezentată în paragraful 1.2.3.1.6. a. În cazul cînd nu se va găsi o soluție izotonică, pentru valoarea lui C din formula de calcul se va lua media concentrației celor două soluții învecinate, în care într-una picătura s-a deplasat în sens descendent, iar în cealaltă în sens ascendent.

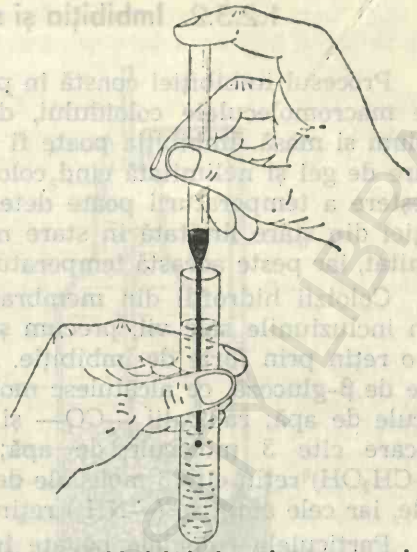


Fig. 1.39. Modul de introducere a unei picături din soluția care a stat în contact cu materialul vegetal, în coloana de soluție pereche, cu concentrația cunoscută.

TABELUL 1.15

Determinarea forței de sucțiune a țesuturilor vegetale după procedeul curenților

Concentrația soluției de zaharoză (M)	Sensul de deplasare a picăturii[1]
0	
0,1	
0,2	
0,3	
0,4	
0,5	
0,6	
0,7	
0,8	
0,9	
1,0	

[1] Se notează, după caz, cu mențiunea ascendent, staționar sau descendent.

1.2.3.2. Imbibiția și schimburile de apă ale celulei

Procesul imbibiției constă în pătrunderea moleculelor lichidului printre macromoleculele coloidului, determinîndu-i creșterea reversibilă de volum și masă. Imbibiția poate fi limitată cînd corpul îmbibat rămîne în stare de gel și nelimitată cînd coloidul trece total în stare de sol. O mică creștere a temperaturii poate determina, la unele coloide, trecerea imbibiției din stare limitată în stare nelimitată: gelatina sub 23°C se îmbibă limitat, iar peste această temperatură se îmbibă nelimitat.

Coloizii hidrofili din membranele pectocelulozice, din citoplasmă și din incluziunile sale vii, precum și din vacuolele punctiforme, atrag apa și o rețin prin forțe de imbibiție. Astfel, fiecare radical —OH din resturile de β-glucoză, ce alcătuiesc moleculele de celuloză, fixează cîte 3 molecule de apă; radicalii —CO— și —NH— din legăturile peptidice rețin fiecare cîte 3 molecule de apă; funcțiile alcoolice ale aminoacizilor (—CH_2OH) rețin cîte 3 molecule de apă, cele acide (—COOH) cîte 4 molecule, iar cele aminice (—NH_2) rețin 4 molecule.

Particulele coloidale bogate în grupări hidrofile atrag și reține apa, care se fixează în straturi orientate la suprafața particulelor (prin adsorbție) și în interiorul lor (prin imbibiție). Cînd acești coloizi sînt subîmbibați, micelele lor sînt apropiate unele de altele și înconjurate de un strat subțire de molecule de apă. Cînd absorb apă, micelele se îndepărtează între ele, se lungesc și stratul de apă ce le înconjoară crește considerabil: coloidul se îmbibă.

La o celulă matură, aflată în stare de viață activă, este dificil de evidențiat partea ce revine forțelor de imbibiție în schimburile de apă ale ei, deoarece aceste forțe sînt însoțite, în special, de forțe osmotice. Pentru a analiza influența forțelor de imbibiție în acest schimb, trebuie folosit un material vegetal la care aceste forțe sînt dominante: iată sînt meristemele apicale ale tulpinilor și rădăcinilor, semințele și sporii.

Imbibiția este însoțită de următoarele fenomene caracteristice: creșterea volumului coloidului, eliberarea de energie mecanică, eliberarea de energie calorică și contracția volumului total (coloid uscat+lichidul de imbibiție).

a. *Creșterea volumului coloidului și contracția volumului total (procedeul Coupin).* Procedeul este redat în figura 1.40. Se astupă etanș un borcan cu un dop de cauciuc prevăzut cu trei orificii: unul este străbătut de un tub de sticlă în formă de U, cel din mijloc este străbătut de un tub de sticlă cu lumenul de circa 5 mm și are atașat la capătul inferior o pară mică de cauciuc plină cu mercur, iar cel de-al treilea orificiu este larg și se astupă cu o baghetă de sticlă.

Modul de lucru. Prin orificiul în care se găsește bagheta se introduce în borcan o cantitate de semințe de in (care au testa foarte bogată în mucilagii hidrofile) astfel ca ele să acopere bine para de cauciuc, după care, prin același orificiu, se toarnă apă pînă ce aceasta umple borcanul pînă la refuz, ajungînd în orificiul în care se fixează bagheta. În acest timp aerul din borcan este evacuat prin tubul în formă de U. Se implîntă capătul distal al tubului în formă de U într-o cuvă cu mercur

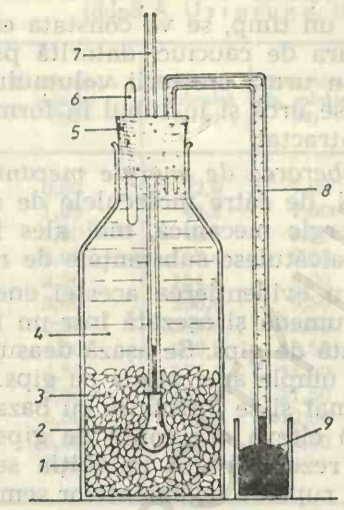


Fig. 1.40. Evidențierea creșterii volumului semințelor imbibate și a contracției volumului total (procedeul Coupin):

1 — vas de sticlă; 2 — pară de cauciuc plină cu mercur; 3 — semințe de in; 4 — apă; 5 — dop de cauciuc; 6 — baghetă de sticlă; 7 — tub de sticlă atașat la para de cauciuc; 8 — tub de sticlă în formă de U; 9 — cuvă cu mercur.

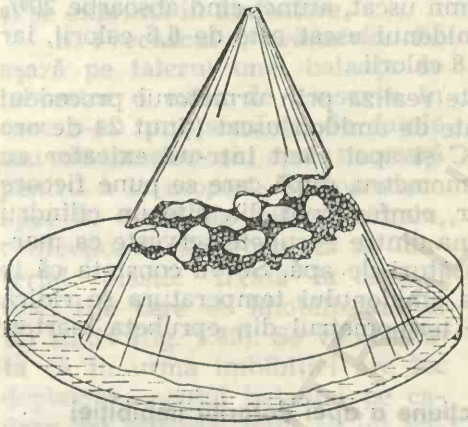


Fig. 1.41. Demonstrarea emisiunii de energie mecanică în procesul de imbibiție.

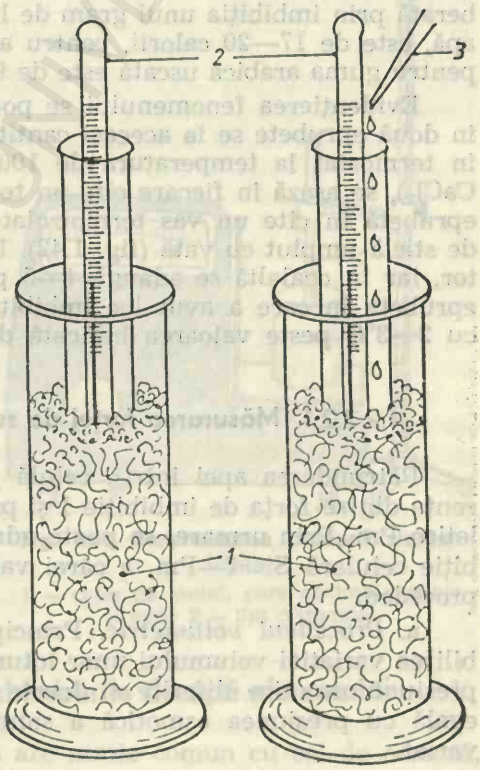


Fig. 1.42. Demonstrarea emisiunii de energie calorică în procesul de imbibiție:

a — în eprubeta cu amidon uscat temperatura rămîne neschimbată; b — în eprubeta cu amidon umectat temperatura crește; 1 — vată; 2 — termometre; 3 — pipetă.

și apoi prin introducerea baghetei de sticlă în orificiul ei, se împinge apa în tubul în formă de U pînă la refuz.

După un timp, se va constata că mercurul urcă în tubul la care este atașată para de cauciuc, datorită presiunii exercitate de semințe asupra acesteia, în urma creșterii volumului semințelor prin imbibiție; totodată mercurul se urcă și în tubul în formă de U, ceea ce arată că volumul total s-a contractat.

b. *Eliberarea de energie mecanică.* Ca urmare a îndepărtării micelelor gelului, de către moleculele de apă care-l îmbibă, rezultă o considerabilă energie mecanică, mai ales în cazul gelurilor proteice, cum sînt cele care alcătuiesc substanțele de rezervă ale semințelor de fasole.

Pentru evidențierea acestei energii, se toarnă într-o pîlnie tapisată cu hîrtie umedă și așezată într-un inel fixat la un stativ, pînă la jumătate o pastă de gips. Se așază deasupra un strat de semințe de fasole uscate și se umple apoi pîlnia cu gips. După solidificarea gipsului se scoate conul format și se introduce cu baza într-un vas care conține un strat de apă. După cîteva ore conul de gips este sfărîmat, ca urmare a energiei mecanice rezultată din imbibiția semințelor (fig. 1.41). Această energie determină ruperea tegumentelor seminale în timpul germinației.

c. *Eliberarea de energie calorică.* Energia calorică pare să rezulte în urma contracției apei de imbibiție, cînd energia cinetică a moleculelor de apă, care formează stratul orientat, este eliberată. Astfel, căldura eliberată prin imbibiția unui gram de lemn uscat, atunci cînd absoarbe 20% apă, este de 17—20 calorii, pentru amidonul uscat este de 6,6 calorii, iar pentru guma arabică uscată este de 9,8 calorii.

Evidențierea fenomenului se poate realiza prin următorul procedeu: în două eprubete se ia aceeași cantitate de amidon uscat (ținut 24 de ore în termostat la temperatura de 100°C și apoi răcit într-un exicator cu $CaCl_2$), se așază în fiecare cîte un termometru, după care se pune fiecare eprubetă în cîte un vas termoizolator, confecționat din cîte un cilindru de sticlă umplut cu vată (fig. 1.42). Una dintre eprubete servește ca martor, iar în cealaltă se adaugă 4—5 picături de apă. Se va constata că în eprubeta în care a avut loc imbibiția amidonului temperatura se ridică cu 2—3°C peste valoarea indicată de termometrul din eprubeta martor.

1.2.3.2.1. Măsurarea forței de sucțiune a apei datorită imbibiției

Pătrunderea apei într-o celulă pe calea imbibiției depinde de diferența dintre forța de imbibiție I și presiunea contrară a membranei scheletice Pm. Prin urmare, se poate admite existența unei sucțiuni de imbibiție celulară Si=I—Pm, a cărei valoare poate fi precizată prin diverse procedee:

a. *Procedeul volumetric.* Principiul acestui procedeu constă în stabilirea variației volumului unor loturi de semințe scufundate în soluții cu presiuni osmotice diferite și foarte mari. Sucțiunea de imbibiție va fi egală cu presiunea osmotică a soluției în care volumul semințelor n-a variat.

Pentru determinare se pun într-o serie de eprubete cu soluții foarte concentrate de LiCl, alese după datele din tabelul 1.16 astfel ca să dezvolte presiuni de ordinul sutelor de atmosfere, cantități egale de semințe

de *Vicia cracca*. După 24 de ore se stabilește soluția în care volumul semințelor nu a crescut. Pentru stabilirea volumului semințelor, acestea se introduc, pe rînd din fiecare eprubetă, într-un cilindru gradat de volum corespunzător, în care s-a pus în prealabil o cantitate de 50 ml apă. Volumul semințelor va fi egal cu diferența dintre nivelul apei citită pe cilindrul gradat după introducerea semințelor în el și volumul de apă introdusă în cilindru; acest volum se compară cu volumul inițial al semințelor, determinat pe un lot separat, de aceeași greutate cu cea a semințelor puse în contact cu soluțiile de LiCl. Forța de sucțiune a apei datorită imbibiției va fi egală cu presiunea osmotică a soluției în care volumul semințelor s-a menținut constant și se exprimă în atmosfere.

b. *Procedeul gravimetric.* Se așază pe talerul unei balanțe de laborator o cutie de conserve în care s-au pus semințe de fasole sau de mazăre și apa necesară pentru a le acoperi. Se introduce apoi în cutie un piston simplu, confecționat dintr-o placă de material plastic fixată la capătul unei tije care se imobilizează la un stativ (fig. 1.43). Se va constata că în urma imbibiției are loc deplasarea acului balanței pe cadran, cu atît mai mult cu cît valoarea forței de imbibiție este mai mare. Masa indicată pe cadran în momentul cînd acul balanței se stabilizează, va corespunde cu valoarea forței de sucțiune de imbibiție, exprimată în grame.

TABELUL 1.16

Presiunea osmotică a soluțiilor de LiCl la 18°C
(după A. Usprung, 1939)

Concentrația soluției (M)	Presiunea osmotică (atm)	Concentrația soluției (M)	Presiunea osmotică (atm)
0,50	22,6	7,00	856,6
1,00	48,1	7,50	982,6
1,50	78,1	8,00	1 116,0
2,00	113,4	8,50	1 255,0
2,50	154,4	9,00	1 402,0
3,00	200,4	9,50	1 556,0
3,50	251,4	10,00	1 713,0
4,00	309,9	10,50	1 872,0
4,50	378,4	11,00	2 028,0
5,00	456,6	11,50	2 173,0
5,50	542,6	12,00	2 310,0
6,00	636,4	12,50	2 481,0
6,50	740,5	—	—

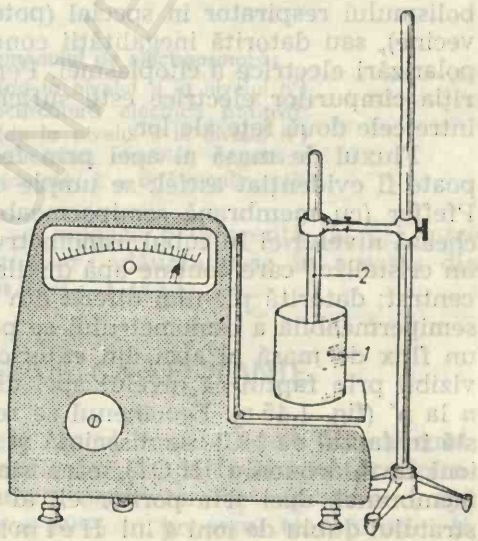


Fig. 1.43. Determinarea presiunii de imbibiție:
1 — cutie de metal, care conține semințe și apă; 2 — tija pistonului.

1.2.3.3. Electroosmoza și schimburile de apă ale celulei

Fenomenul de electroosmoză nu are nimic comun cu cel de osmoză, deoarece reprezintă mișcarea unui flux de masă a lichidului ce traversează porii unei membrane, sub influența unui cîmp electric. Această mișcare este posibilă deoarece în celulele vegetale se poate instala un po-

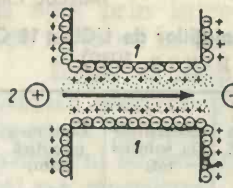


Fig. 1.44. Mecanismul electroosmozei aparente: 1 – membrană; 2 – compartimentul extern; 3 – compartimentul intern.

tențial electric la nivelul peretelui celular, datorită pectinei și altor substanțe care conțin grupări —COOH, care disociază în $—COO^- + H^+$: ionii $—COO^-$ dau peretelui celular o încărcătură electrică negativă. Pentru echilibrare sînt atrași electrostatic ioni mobili cu sarcini electrice opuse, care se așază paralel cu membrana, instalîndu-se astfel un gradient de potențial electric. Asemenea faze se întîlnesc și în membranele plasmatice sau la nivelul citoplasmei, sarcinile lor electrice fiind date de grupările funcționale ale proteinelor. Astfel, la nivelul membranelor biologice există un strat dublu de ioni de semn contrar, cu rol dielectric; pe fața internă sînt sarcini negative, iar pe cea externă pozitive, fapt ce dă naștere la un potențial electric (o tensiune electrică) numit tensiune sau potențial de membrană. Fenomenul are loc și pe pereții porilor unei membrane: dacă există un cîmp electric între cele două fețe ale membranei, ia naștere un curent de lichid ce se deplasează spre încărcătura electrică opusă încărcăturii superficiale pe care o poartă (fig. 1.44). Astfel, apa migrează, sub forma unui flux de masă, dintr-o parte a membranei în cealaltă, chiar contra gradientului electric. În celule, cîmpul electric poate apărea datorită unei diferențe de potențial ca urmare a metabolismului respirator în special (potențial redox diferit între două celule vecine), sau datorită inegalității concentrației ionilor, sau existenței unei polarizări electrice a citoplasmei. Pentru polarizarea membranelor și apariția cîmpurilor electrice este suficientă existența unei diferențe de *p*H între cele două fețe ale lor.

Fluxul de masă al apei prin fenomenul de electroosmoză aparentă[1] poate fi evidențiat astfel: se umple cu apă distilată un osmometru de tip Pfeffer (cu membrană semipermeabilă de ferocianură cuprică), se marchează nivelul ei în tubul osmometrului și se introduce osmometrul într-un cristalizor care conține apă distilată acidulată cu 1—2 ml de HCl concentrat; datorită *p*H-ului diferit din cele două compartimente, membrana semipermeabilă a osmometrului se polarizează electric, ceea ce determină un flux de masă al apei din exterior în interiorul osmometrului, proces vizibil prin faptul că nivelul apei din tubul osmometrului va urca de la *n* la *n'* (fig. 1.45 a). Fenomenul se realizează în patru timpi: primul constă în faptul că HCl se disociază și protonii de H^+ se unesc cu apa dînd ioni de hidroxoniu (H_3O^+), care sînt adsorbiți la suprafața externă a membranei, deci și a porilor ei; al doilea constă în formarea în pori a stratului dublu de ioni a lui Helmholtz, prin fixarea de către ionii de hidroxoniu adsorbiți a unui strat de ioni de semn contrar; al treilea timp constă în respingerea ionilor de hidroxoniu din compartimentul extern (particulele de același semn se resping) și atragerea lor de către ionii de semn contrar din stratul dublu al lui Helmholtz; al patrulea constă în „împingerea" ionilor de hidroxoniu din compartimentul extern și „sugerea lor în compartimentul intern (în osmometru) datorită „vidului" de ioni cu sarcină electrică pozitivă de aici.

[1] Electroosmoza propriu-zisă se referă la deplasarea ionilor în sensul gradientului electric și nu la deplasarea lor în urma antrenării acestora de către fluxul de masă al lichidului.

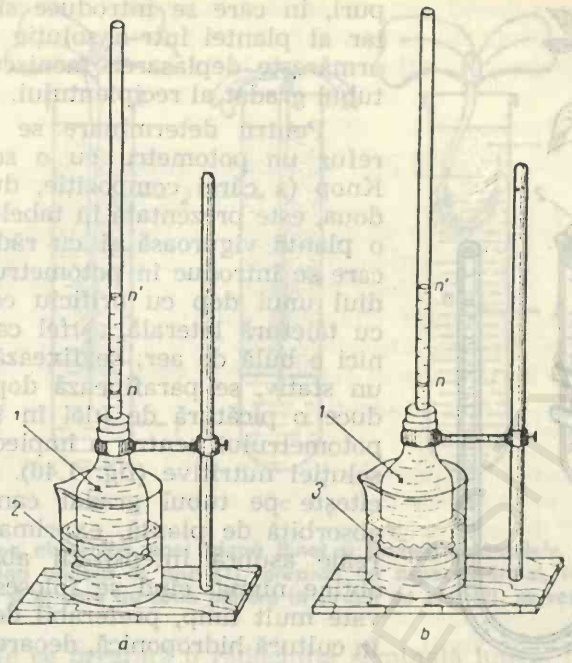


Fig. 1.45. Evidențierea fenomenului de electroosmoză:
a — fluxul de masă al apei (de la nivelul n la nivelul n') prin porii membranei cu încărcătură electrică pozitivă; b — fluxul de masă al apei (de la nivelul n la nivelul n') prin porii membranei cu încărcătură electrică negativă; 1 — apă distilată; 2 — apă acidulată; 3 — apă alcalinizată.

Procesele se petrec la fel dacă se creează o diferență de *p*H între apa din osmometru și cea din cristalizor, adăugîndu-se în aceasta din urmă 1—2 ml de soluție de NaOH 30% (fig. 1.45 b).

1.3. ABSORBȚIA APEI DE CĂTRE PLANTE

În cursul întregii lor vieți plantele absorb continuu apă din substrat, mai ales cu ajutorul sistemului lor radicular și apă în timpul precipitațiilor, din rouă sau din ceață cu ajutorul organelor lor supraterane, apă ce este eliminată în proporție de circa 99% în procesul transpirației și, în anumite condiții, prin gutație. Existența curentului continuu de apă între sistemul radicular și organele supraterane reprezintă o condiție esențială a activității metabolice și deci a supraviețuirii plantelor.

1.3.1. PROCEDEE DE MĂSURARE A ABSORBȚIEI APEI

Pentru măsurarea intensității absorbției apei au fost elaborate procedee directe și indirecte:

a. *Procedee directe.* Procedeele directe cele mai uzuale folosesc ca dispozitiv de măsurare a absorbției apei potometrele (denumirea vine din limba greacă de la cuvîntul *potos* care înseamnă a bea) de diferite ti-

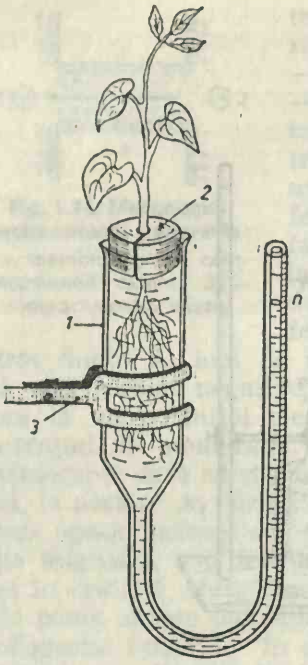


Fig. 1.46. Determinarea intensității absorbției apei la o plantă crescută în cultură hidroponică:
1 – potometru; 2 – dop de cauciuc perforat și tăiat pe o parte pentru fixarea tulpinii plantei; 3 – clema stativului; n – nivelul la care retrage apa în tubul gradat al potometrului, în urma absorbției ei de către plantă prin sistemul radicular.

puri, în care se introduce sistemul radicular al plantei într-o soluție nutritivă și se urmărește deplasarea meniscului soluției în tubul gradat al recipientului.

Pentru determinare se umple pînă la refuz un potometru cu o soluție nutritivă Knop (a cărei compoziție, după varianta a doua, este prezentată în tabelul 2.4), se alege o plantă viguroasă și cu rădăcinile intacte, care se introduc în potometru prin intermediul unui dop cu orificiu corespunzător și cu tăietură laterală, astfel ca să nu rămînă nici o bulă de aer; se fixează potometrul la un stativ, se parafinează dopul și se introduce o picătură de ulei în tubul gradat al potometrului pentru a împiedica evaporarea soluției nutritive (fig. 1.46). După o oră se citește pe tubul gradat cantitatea de apă absorbită de plantă, exprimată în ml. Date reale asupra intensității absorbției se pot obține numai cînd se folosesc plante cultivate mult timp, preferabil de la germinație, în cultură hidroponică, deoarece trecerea unei plante din sol în potometru modifică puternic absorbția apei de către aceasta din soluția nutritivă.

b. *Procedee indirecte.* Ținînd cont de faptul că circa 99% din cantitatea de apă absorbită de către plante este eliminată de ele prin transpirație, există posibilitatea de a aprecia intensitatea absorbției prin măsurarea cantității de apă eliminată prin transpirație, folosind procedeele prezentate în paragraful 1.5.1.2.

1.3.2. LOCALIZAREA ABSORBȚIEI APEI

La plantele nevasculare de talie mică (criptogame unicelulare, talofite terestre, briofite etc.) aparatul vegetativ absoarbe apa prin întreaga sa suprafață, uneori prin rizoizi, sau prin hialociste (celule acvifere moarte, ca la *Sphagnum palustre).* La plantele vasculare apar rădăcinile, organe de fixare și de absorbție, prevăzute cu țesuturi conducătoare specializate.

1.3.2.1. Absorbția radiculară

La plantele vasculare terestre, ale căror rădăcini posedă peri absorbanți, absorbția apei are loc mai ales pe la nivelul acestora. Această particularitate este dovedită de experimentul lui *Coupin* (fig. 1.47). Pentru evidențierea rolului diferitelor zone ale rădăcinii în absorbția apei

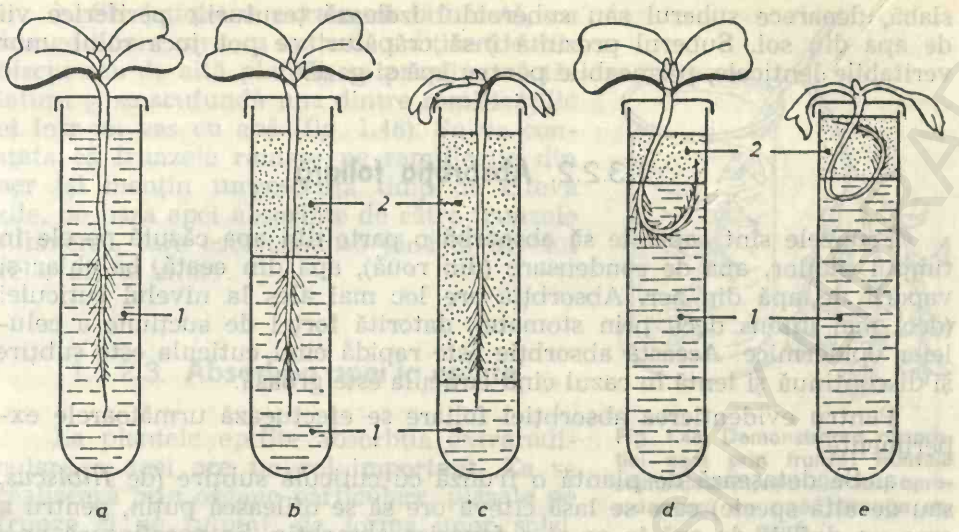


Fig. 1.47. Localizarea absorbției apei (după Binet și Brunel): plantulele din eprubetele a, b și d, care au zona piliferă în apă (1), prezintă un aspect normal, iar cele din eprubetele c și e, care au zona piliferă în stratul de ulei (2), se vestejesc.

se așază plantule ce prezintă o rădăciniță seminală lungă, în cîte o eprubetă în următoarele poziții:

— O plantulă martor se plasează, fixînd-o, prin intermediul unui capac de carton prevăzut cu un orificiu corespunzător și cu o tăietură laterală, astfel ca să fie cu toată rădăcina în apă.

— O altă plantulă se fixează cu rădăcinița, astfel ca vîrful ei și zona perilor absorbanți să fie în apă, iar celelalte zone în ulei.

— A treia se așază cu vîrful rădăcinii în apă și cu zona perilor absorbanți și cea situată deasupra ei în ulei.

— O plantulă se așază cu rădăcina curbată astfel ca vîrful și partea ei superioară să stea în ulei, iar zona perilor absorbanți în apă.

— A cincea plantulă se așază astfel ca vîrful rădăcinii și zona perilor absorbanți să stea în ulei, iar restul rădăciniței în apă.

Plantulele cu care se lucrează trebuie să fie puțin ofilite, pentru a fi înlăturată rigiditatea țesuturilor datorită turgescenței celulelor, fapt ce permite realizarea pozițiilor rădăcinii, cerute de experiment.

După un interval de timp se va constata că plantula martor și cele la care zona perilor absorbanți s-a aflat în apă trăiesc, păstrîndu-și aspectul normal, iar celelalte, care au avut zona piliferă în ulei, se ofilesc și pier.

Acest experiment nu trebuie să ducă la concluzia că absorbția apei este nulă în afara zonei pilifere, ci doar că este insuficientă pentru a asigura supraviețuirea plantelor. În vîrful rădăcinii (la nivelul zonei meristematice și zonei netede) absorbția apei este slabă deoarece la acest nivel nu există țesuturi conducătoare capabile să vehiculeze apa. La acest nivel este absorbită doar apa necesară local, care servește la hidratarea coloizilor neoformați și la sporirea volumului vacuolar în timpul cînd are loc alungirea celulelor. În zona aspră pătrunderea apei este foarte

slabă, deoarece suberul sau suberoidul izolează țesuturile periferice vii de apa din sol. Suberul prezintă însă crăpături ce pot juca rolul unor veritabile lenticele, permeabile pentru apă și gaze.

1.3.2.2. Absorbția foliară

Frunzele sînt capabile să absoarbă o parte din apa căzută pe ele în timpul ploilor, apa de condensare (din rouă), apa din ceață, ba chiar și vaporii de apă din aer. Absorbția are loc mai ales la nivelul cuticulei (deci mai intens decît prin stomate), datorită forței de sucțiune a celulelor epidermice. Această absorbție este rapidă cînd cuticula este subțire și discontinuă și lentă în cazul cînd cuticula este groasă.

Pentru evidențierea absorbției foliare se efectuează următoarele experimente:

a. Se detașează de plantă o frunză cu cuticulă subțire (de *Hibiscus*, sau de altă specie) care se lasă cîteva ore să se ofilească puțin, pentru a crea un deficit de apă în ea și a favoriza absorbția. Se parafinează apoi baza pețiolului, scufundîndu-l în parafină topită și apoi se cîntărește frunza la o balanță analitică sau de torsiune. După cîntărire se scufundă frunza într-un cristalizor cu apă și după o oră se cîntărește din nou, după ce apa de pe limb a fost îndepărtată printr-o tamponare ușoară cu hîrtie sugativă. Prin diferență se află cantitatea de apă absorbită, care se raportează fie la 100 grame de substanță proaspătă, fie la unitatea de suprafață (1 dm^2).

Pentru raportarea apei absorbite la 100 g substanță proaspătă se utilizează relația:

$$\frac{a \cdot 100}{m},$$

în care:

a=cantitatea de apă absorbită (în grame);

m=masa inițială a frunzei (în grame);

100=coeficient pentru exprimarea rezultatului în procente.

În cazul în care raportarea cantității de apă absorbită se face la unitatea de suprafață a frunzei, se determină, după aflarea cantității de apă absorbită în intervalul de timp dat, suprafața acesteia după procedeul descris la paragraful 1.5.1.2.1.1 și se utilizează relația:

$$\frac{a \cdot 1}{S},$$

în care:

a=cantitatea de apă absorbită (în grame);

S=suprafața frunzei (în dm^2);

1=unitatea de suprafață la care se face raportarea (1 dm^2).

Pentru comparație se procedează în același mod la determinarea cantității de apă absorbită de o frunză cu cuticula groasă (de *Peperonia* sau de la altă specie). De asemenea, experimentul se poate prelungi, cîntărind frunzele la diferite intervale de timp, pentru a urmări dinamica procesului de absorbție a apei.

b. Se detaşează o ramură bifurcată, cu frunze tinere care au cuticulă subţire (de *Hibiscus* sau de altă plantă), se parafinează tăietura şi se scufundă una dintre ramificaţiile ei într-un vas cu apă (fig. 1.48). Se va constata că frunzele rămase pe ramificaţia din aer îşi menţin turgescenţa timp de cîteva zile, pe baza apei absorbite de către frunzele submerse, care este condusă pînă la nivelul celor aflate în aer.

Fig. 1.48. Demonstrarea absorbţiei apei prin frunze: frunzele scufundate în apa din vas, aprovizionează cu apă întreaga ramură.

1.3.2.3. Absorbţia apei la epifite

La plantele epifite absorbţia extraradiculară a apei are un rol important. Ea se realizează prin organe particulare, plasate pe frunze şi pe tulpini, de forma unor solzi. Aceşti solzi epidermici, care absorb energic apa, se aseamănă cu nişte umbrele, fiind formaţi dintr-o rozetă de celule absorbante, ale căror pereţi externi constituie, uneori, un mucilagiu higroscopic.

Pentru evidenţierea rolului acestor solzi în absorbţia apei, se taie cîteva segmente de la baza unei frunze de *Bilbergia* (Fam. *Bromeliaceae)* şi se ţin cîteva ore într-o soluţie diluată de roşu neutru. Se fac apoi cîteva secţiuni transversale pe partea inferioară a segmentelor de frunză în dreptul solzilor absorbanţi, se montează într-o picătură de apă şi se examinează la microscop. Se fac, de asemenea, cîteva secţiuni superficiale, paralele cu suprafaţa epidermei, care se montează într-o picătură de apă şi se examinează la microscop. Se va observa că, văzute de sus, solzii apar ca nişte discuri mici colorate în roşu, fapt ce demonstrează că prin ei a pătruns apa cu colorantul (fig. 1.49), iar în secţiune transversală se va observa că apa absorbită este condusă prin celulele piciorului solzilor, care se colorează de asemenea.

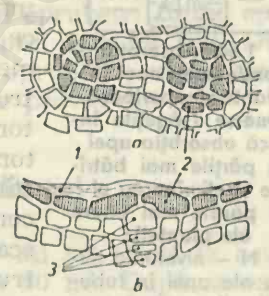


Fig. 1.49. Solz absorbant de pe frunzele de *Bilbergia:*
a – văzut de sus; b – în secţiune transversală; 1 – mucilagiu; 2 – rozetă de celule absorbante; 3 – celulele piciorului solzului.

1.3.2.4. Absorbţia apei la plantele acvatice submerse

Plantele submerse, chiar şi cele care au rădăcini, absorb apa prin toată suprafaţa cormului lor, care este lipsită totdeauna de cuticulă. La speciile lipsite de rădăcini absorbţia apei se face prin tulpini şi frunze. Întrucît la speciile submerse apa absorbită nu este eliminată deloc prin transpiraţie, care nu se poate desfăşura în mediul acvatic, ea suferă o distribuire activă în întreaga plantă, distribuire ce se manifestă prin

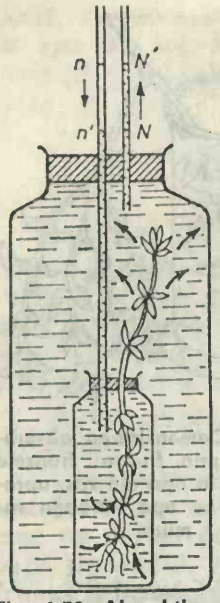


Fig. 1.50. Absorbția și conducerea apei la plantele superioare submerse (săgețile indică absorbția apei prin părțile mai bătrîne și eliminarea ei prin părțile mai tinere ale plantei):
n și N – nivelurile inițiale ale apei în tuburile dispozitivului;
n' și N' – nivelurile finale ale apei din tuburile dispozitivului.

absorbția ei predominant pe la părțile bazale ale tulpinii și ramurilor și eliminarea ei la nivelul zonelor mai apicale ale acestora.

Absorbția și conducerea apei la plantele acvatice submerse poate fi evidențiată cu ajutorul a două potometre (fig. 1.50): într-un borcan mic, prevăzut cu un dop care are o perforație străbătută de un tub de sticlă cu lumenul de circa 3 mm și o altă perforație cu tăietură laterală pentru introducerea plantei, se toarnă apă pînă la refuz și se introduce o ramură de *Elodea canadensis*, astfel ca jumătate din ea să ajungă pînă la fundul borcanului și cealaltă jumătate să iasă prin dopul acestuia în exterior. Se parafinează bine dopul pentru fixarea și izolarea uneia din jumătățile plantei în borcan și se marchează înălțimea apei din tubul de sticlă (n). Acest borcan, care de fapt reprezintă un mic potometru, se introduce într-un vas de dimensiuni convenabile, care se umple cu apă pînă la refuz și se astupă cu un dop ce poartă un tub de sticlă propriu (cu diametrul lumenului tot de circa 3 mm) și un orificiu cu diametrul potrivit, prin care se trece tubul de sticlă al potometrului mic. Se parafinează și dopul acestui potometru și se marchează nivelul apei din tubul de sticlă cu care este prevăzut (N). După cîteva ore se constată că nivelul apei din tubul potometrului mic scade de la n la n', iar cel al apei din tubul potometrului mare se ridică de la N la N'. Rezultă că apa este absorbită prin părțile distale, mai bătrîne, ale plantei și eliminată activ prin părțile ei apicale, care sînt mai tinere.

1.3.3. PROPRIETĂȚILE SOLULUI ÎN LEGĂTURĂ CU APA

Solul constituie un suport mecanic ce permite fixarea plantelor, dar în același timp este o sursă de alimente minerale, gaze și apă pentru ele. Ca stare fizică de agregare solul este un corp trifazic, fiind format din particule coloidale organice și minerale (complexul adsorbant organo-mineral) în interstițiile cărora se găsește aer și apă.

1.3.3.1. Recoltarea probelor de sol pentru analiză

Solul constituie o colectivitate statistică, formată dintr-un număr infinit de unități statistice[1], care diferă între ele atît la suprafață cît și în adîncimea solului. Cercetarea unei unități statistice (probă de sol in-

[1] Convențional, o unitate statistică este reprezentată prin proba de sol recoltată o singură dată cu o unealtă (hîrleț, lopată, sondă etc.).

dividuală) duce la erori mari și de aceea investigarea se efectuează pe probe statistice care sînt constituite dintr-un număr limitat de unități statistice, alese din totalitatea lor. Se admite că media aritmetică a unei probe statistice nu se abate prea mult față de media adevărată a colectivității, mai ales dacă volumul probei este mare. Prin urmare cercetarea se efectuează pe probe de sol compuse, care provin din mai multe probe de sol individuale, ce s-au amestecat în mod omogen. Numărul probelor de sol individuale, care se amestecă într-o probă de sol compusă, este ales în funcție de variabilitatea terenului și de precizia urmărită în cercetare. Detaliile referitoare la luarea probelor parțiale, alcătuirea probelor medii și pregătirea probelor pentru analiză sînt prezentate în paragrafele 2.2.1. și 2.2.2.

1.3.3.2. Evidențierea apei din sol

Se întinde solul într-un strat subțire (1—1,5 cm) pe o bucată de hîrtie groasă și se lasă să se usuce bine la aer. Se cerne apoi printr-o sită de 2 mm și se ia din proba cernută o cantitate de 2—3 grame într-o eprubetă uscată, după care se încălzește conținutul eprubetei ținînd eprubeta în poziție înclinată la flacăra mică a unui bec de gaz. După 1—2 minute se va observa în apropierea gurii eprubetei, unde pereții rămîn mai reci, apariția unor picături de apă care provin din sol.

1.3.3.3. Evidențierea aerului din sol

Se introduce într-un cilindru gradat de 100 ml sol uscat la aer și cernut prin sita de 2 mm, pînă la diviziunea de 50 ml. După aceea se toarnă peste solul din cilindru 50 ml de apă distilată, amestecînd în acest timp solul cu o baghetă de sticlă. Apa va dezlocui aerul din sol, fapt ce duce la scăderea nivelului ei în cilindrul gradat. Cantitatea de aer din solul cercetat va fi egală cu diferența (în mililitri) dintre diviziunea 100 de pe cilindru și diviziunea la care se află meniscul apei la sfîrșitul experimentului.

1.3.3.4. Evidențierea ascensiunii capilare

Prin ascensiune capilară se înțelege migrarea apei prin spațiile capilare ale solului. Determinarea ascensiunii capilare prezintă importanță prin faptul că furnizează date asupra timpului necesar pentru aprovizionarea solului cu apă capilară.

Viteza ascensiunii capilare a apei în sol se determină cu aparatul Wahnschaffe, care constă din 10 tuburi de sticlă cu diametrul de 2 cm și lungimea de 1 m, fixate în poziție verticală într-un stativ prevăzut la partea inferioară cu un vas paralelipipedic de tablă, ce servește ca rezervor de apă (fig. 1.51).

Pentru determinare se leagă la capătul inferior al tuburilor cîte o bucată de tifon, după care se introduc în ele diferite tipuri de sol (în tubul nr. 1 sol nisipos, în următorul sol argilos, în altul un sol bogat în

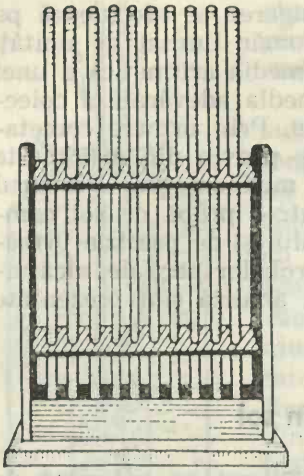


Fig. 1.51. Aparatul Wahnschaffe (după Gerhardt).

humus etc.), în așa fel încît înălțimea solurilor să fie în fiecare tub la 80 cm. După această operație se introduce baza tuburilor în bazinul cu apă de la baza stativului, pe o distanță de 1—2 cm. Acest lucru se realizează suspendînd tuburile la stativ cu ajutorul unor inele de cauciuc, care se fixează pe tuburi la înălțimea potrivită. În timpul experimentului nivelul apei din bazin trebuie menținut, pe cît se poate, constant. Pentru evitarea influenței aerului se recomandă ca apa utilizată să fie în prealabil fiartă și răcită, pentru a scoate aerul din ea.

Se notează ora la care s-a montat experimentul și după 1—24 de ore se măsoară înălțimea pînă la care s-a ridicat apa în tuburi. Rezultatul, adică viteza ascensiunii capilare, se exprimă în cm pe oră sau în cm/24 h.

1.3.3.5. Evidențierea permeabilității solului

Prin permeabilitate se înțelege proprietatea pe care o are solul de a lăsa apa să se înfiltreze în profunzime.

Determinarea permeabilității solului se face cu ajutorul tubului Wolff (fig. 1.52), procedînd în felul următor: se introduce puțină vată în porțiunea în formă de pîlnie a tubului, se umple apoi această porțiune cu nisip sau pietriș și se introduce peste acest strat sol pe o înălțime de 16 cm. După efectuarea acestor operații se fixează tubul într-un stativ și se toarnă apă peste solul din el. Coloana de apă din tub trebuie să aibă permanent o înălțime de 8 cm, ceea ce impune menținerea ei, pe cît posibil, la un nivel constant. După ce spațiile lacunare din sol s-au umplut cu apă și aceasta începe să picure din tub, se colectează această apă într-un cilindru de 50 ml. Se notează timpul în care se colectează 50 ml de apă și se calculează, prin regula de trei simplă, gradul de permeabilitate, care se exprimă în ml apă pe oră.

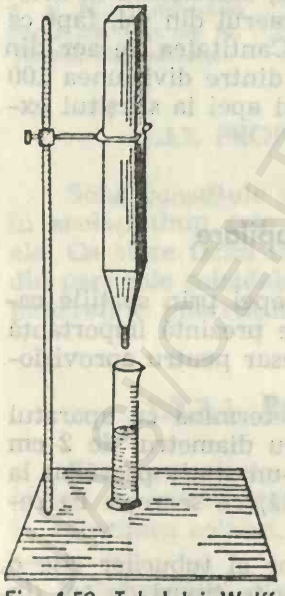


Fig. 1.52. Tubul lui Wolff (după Chiriţescu – Arva).

Tubul Wolff poate fi înlocuit cu un tub de sticlă cu diametrul de 3—4 cm, terminat la un capăt cu o pîlnie.

1.3.3.6. Determinarea umidității solului (a substanței uscate)

Determinarea acestui indice prezintă o importanță deosebită pe de o parte pentru faptul că oferă posibilitatea cunoașterii cantității de apă

pe care o conține un sol la un moment dat (umiditatea actuală), iar pe de alta deoarece conținutul în substanță uscată constituie un etalon la care se raportează rezultatele celorlalte analize de laborator.

TABELUL 1.17

Determinarea umidității solului

Cîntărirea I	Cîntărirea II	Cîntărirea III	b—c (g)	b—a (g)	Umiditatea
a (g)	b (g)	c (g)			(%)

Procedeul de lucru. Se folosesc fiole de cîntărit cu capacitate convenabilă și, la început, se află masa fiolei goale împreună cu capacul acesteia (cîntărirea I), după care se introduce în ea o cantitate de 30—40 g sol în cazul solurilor cu umiditate mare și de circa 10 g în cazul cînd determinările se fac pe soluri uscate la aer în laborator sau pe soluri cu umiditate redusă și se cîntărește fiola din nou, împreună cu capacul (cîntărirea II). Se introduce apoi fiola descoperită într-un termostat la temperatura de 100—105°C, pentru un interval de 3—4 ore. După aceasta se scoate fiola din termostat, se închide repede cu capacul și se introduce într-un exicator, în care se găsește $CaCl_2$, unde se lasă pînă la răcire (15—20 de minute). După răcire se cîntărește din nou fiola cu sol, după ce în prealabil i se ridică pentru cîteva secunde capacul pentru a permite intrarea aerului în interiorul ei (cîntărirea III). După cîntărire se introduce din nou fiola în termostat (la 100—105°C) și se lasă timp de o oră, apoi se răcește în exicator și se repetă cîntărirea, respectînd regulile menționate anterior. Dacă masa fiolei cu sol nu diferă de cea determinată la cîntărirea precedentă, sau diferența dintre cele două cîntăriri nu este mai mare de 3 mg, solul poate fi considerat uscat (ajuns la masă constantă). În cazul cînd diferența dintre cele două cîntăriri depășește 3 mg, se continuă uscarea în termostat, răcirea și cîntărirea fiolei, pînă ce ajunge la masă constantă.

Rezultatele obținute la cîntăriri se trec într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 1.17, iar umiditatea solului, care se exprimă în procente față de greutatea solului uscat, se calculează cu ajutorul formulei:

$$\frac{b-c}{b-a} \cdot 100,$$

în care

a = tara fiolei (în g);
b = masa fiolei cu sol umed (în g);
c = masa fiolei cu sol uscat (în g);
100 = factor pentru raportare procentuală.

1.3.3.7. Determinarea forței de sucțiune a solului pentru apă

Forța de sucțiune a solului pentru apă (prescurtat sucțiunea) este o noțiune generală, care exprimă forțele cu care solul reține apa. Ea poate fi definită ca fiind deficitul de presiune (în raport cu presiunea atmosferică) la care se găsește apa în sol. Cu cît solul este mai uscat, cu atît reține apa cu o forță mai mare și cu atît sucțiunea este mai ridicată. Reținerea apei de către sol (sucțiunea) se datorește mai multor cauze: în principal, originea valorilor sucțiunii stă în sucțiunea matricială (reținerea apei prin

capilaritate, adsorbția și imbibiția particulelor solide ale solului) și în sucțiunea osmotică (datorită sărurilor dizolvate în soluția solului). Pentru exprimarea sucțiunii se folosesc diferite unități de măsură (cm coloană de apă, pF care reprezintă logaritmii înălțimii coloanei de apă exprimată în cm, mm coloană de mercur, atmosfere, milibari, bari), funcție de procedeul folosit la determinare.

Cunoașterea valorilor forțelor cu care este reținută apa în sol are o mare importanță teoretică și practică, deoarece plantele pot absorbi din sol numai apa care este reținută cu o forță mai mică decît forța de sucțiune a zonelor de absorbție a sistemului radicular, îndeosebi a perilor absorbanți.

Determinarea sucțiunii solului se poate face prin următoarele procedee:

a. *Determinarea sucțiunii pe baza echilibrului de presiune a vaporilor (procedeul Mitscherlich).* Principiul procedeului constă în realizarea, prin schimb de vapori de apă, a unui echilibru între proba de sol și atmosfera (cu o umiditate relativă dată) în care se găsește această probă. După realizarea stării de echilibru se determină sucțiunea, aplicînd relația:

$$pF=6{,}502+\log(2-\log H),$$

în care H este umiditatea relativă a atmosferei.

Valori diferite ale umidității relative a atmosferei se realizează folosind soluții saturate ale unor compuși chimici, sau, mai frecvent, soluții apoase de H_2SO_4 de concentrații corespunzătoare (tabelul 1.18). Modul de preparare a soluțiilor procentuale de H_2SO_4 este prezentat la punctul 9 din anexă.

Pentru determinare se introduc aproximativ cîte 10 g de sol uscat la aer în 7 cutii Petri sau fiole de cîntărit de înălțime redusă și cu suprafața bazei mare, cu tara stabilită în prealabil și se așază fiecare în cîte un exicator pentru vid, în care s-a pus anterior un volum de 20 ml din cîte una din soluțiile de H_2SO_4 indicate în tabelul 1.18, sau cîte una din soluțiile saturate specificate în acest tabel. Se ung marginile exicatoarelor și ale capacelor lor cu hahnfett, după care se închid exicatoarele și se scoate pe rînd aerul din ele cu ajutorul unei trompe de vid, pînă cînd se observă apariția unor mici bule deasupra soluțiilor din interiorul lor. În acest moment se închid robinetele exicatoarelor, se deconectează de la trompa de vid, după care se așază într-un loc întunecos și cu temperatură constantă. După 4—5 zile se deschid pe rînd, încet, robinetele exicatoarelor și după încetarea zgomotului produs de intrarea aerului în ele, se deschid

TABELUL 1.18

Presiunea relativă de vapori corespunzătoare diferitelor soluții (după Tschapek, 1959)

Soluția	Concentrația	Presiunea relativă de vapori (%)
H_2SO_4	3%	99
„	10%	96
„	25%	82
„	35%	67
„	46%	55
„	50%	35
„	60%	16
$Ba(NO_3)_2$	soluție saturată	99
$Pb(NO_3)_2$	„ „	98
$(NH_4)_2SO_4$	„ „	81
$NaNO_3$	„ „	66
$Zn(NO_3)_2$	„ „	42
$CaCl_2$	„ „	31
LiCl	„ „	15

prin împingerea tangențială a capacelor de pe ele. Se scot apoi cutiile Petri sau fiolele de cîntărit din ele, se acoperă cu capacele lor și se cîntăresc, pentru a găsi proba care nu și-a modificat masa. Valoarea lui H este dată de proba care nu și-a modificat masa în atmosfera respectivă și se caută în tabelul 1.18.

b. *Determinarea sucțiunii solului pe baza echilibrului de presiune a vaporilor de apă (procedeul Stocker).* Principiul constă în realizarea unui echilibru de vapori de apă între proba de sol și o soluție de zaharoză de o concentrație dată.

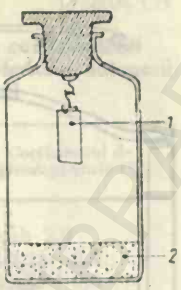


Fig. 1.53. Determinarea sucțiunii solului prin procedeul Stocker: 1 – hîrtie de filtru îmbibată; 2 – sol.

Pentru determinare se introduc în borcane de sticlă cu dop rodat, cu capacitatea de 250 ml, cîte 100 g de sol. După aceea se taie dintr-o coală de hîrtie de filtru cîte un pătrat cu laturile de 4 cm pentru fiecare borcan, se îndoaie hîrtiile în două, li se atașează cîte un cîrlig de sîrmă și se introduc pe rînd în cîte o soluție de zaharoză astfel: prima într-o soluție cu concentrația de 0,25 moli, a doua într-o soluție de 0,50 moli, a treia într-o soluție de 0,75 moli, următoarea într-o soluție de 1,0 moli, iar celelalte în soluții de concentrații diferite, cunoscute, alese din tabelul 1.7 astfel ca să dezvolte presiuni osmotice crescînde cu rata de aproximativ 30 de atmosfere. Se tamponează apoi hîrtiile ușor cu hîrtie sugativă pentru a îndepărta surplusul de soluție de pe ele și se cîntăresc rapid, cu cîrlig cu tot, la o balanță de torsiune. Se agață apoi, imediat după cîntărire, în fiecare borcan cîte o hîrtie, de un cîrlig al dopului acestuia, fixat cu ceară sau hîrtie gumată și, după ce se ung marginile dopurilor cu hahnfett, se închid ermetic borcanele și se așază într-un loc întunecos și cu temperatură constantă (fig. 1.53). După 24 de ore se cîntăresc hîrtiile de filtru din nou, pentru a găsi hîrtia care nu și-a modificat masa. Forța de sucțiune a solului (forța de reținere a apei de către sol), exprimată în atmosfere, va fi egală cu presiunea osmotică a soluției de zaharoză cu care a fost îmbibată hîrtia căutată și valoarea presiunii osmotice a acestei soluții se află din tabelul 1.7

1.3.3.8. Determinarea indicilor hidrofizici ai solurilor

Prin indici hidrofizici se înțeleg anumite valori caracteristice ale umidității solului, la care au loc modificări sensibile ale proprietăților apei din sol; la aceste valori caracteristice au loc, în special, modificări ale mobilității și accesibilității ei pentru plante, datorită trecerii de la o formă de apă la alta. Cunoașterea acestor indici este esențială în studiul relațiilor dintre sol, apă și plantă.

1.3.3.8.1. Determinarea coeficientului de higroscopicitate a solurilor

Principiul procedeului constă în realizarea stării de echilibru a umidității solului în prezența unei soluții de H_2SO_4 10%, urmată de determinarea acestei umidități.

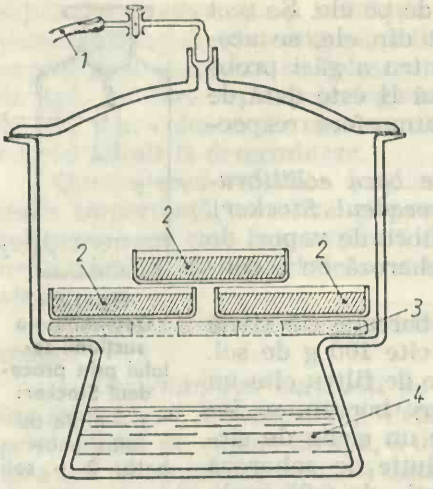


Fig. 1.54. Exicator pentru vid, folosit la determinarea coeficientului de higroscopicitate:

1 – legătura, prin tub de cauciuc, la trompa de apă; 2 – cutii Petri cu probe de sol; 3 – placă de porțelan cu orificii; 4 – soluție de H_2SO_4 10%.

Coeficientul de higroscopicitate se determină pe probe de sol uscate la aer, deoarece uscarea prealabilă a solului la 100—105°C reduce considerabil valoarea coeficientului de higroscopicitate, datorită efectului de histerezis[1].

Determinările trebuie să se facă la temperatură constantă, deoarece variațiile de temperatură influențează presiunea relativă a vaporilor de apă de deasupra soluției de H_2SO_4, precum și cantitatea de apă pe care o absoarbe solul.

Modul de lucru. Într-un exicator pentru vid se introduce o soluție de H_2SO_4 10% (reactivul nr. 9), în cantitate de 20 ml pentru fiecare probă[2]. Se așază apoi pe placa de porțelan a exicatorului cutiile Petri sau fiolele de cîntărit (care trebuie să fie de înălțime mică și cu suprafața bazei mare) tarate în prealabil, în care s-au introdus circa 10 g de sol uscat la aer, din fiecare probă de cercetat. Cutiile Petri sau fiolele de cîntărit se pot așeza într-un singur strat sau în mai multe, dar fără ca cele de deasupra să le acopere pe cele de dedesubt (fig. 1.54). Se ung apoi marginile exicatorului și ale capacului lui cu hahnfett, se închide exicatorul ermetic și după aceea se scoate aerul din el, cu ajutorul unei trompe de vid, pînă ce se observă apariția unor mici bule deasupra soluției din exicator. Se închide apoi robinetul exicatorului, se deconectează exicatorul de trompa de vid și se așază într-un loc întunecos și cu temperatură constantă.

După 4—5 zile se deschide încet robinetul exicatorului și după încetarea zgomotului produs de intrarea aerului în el, se deschide capacul acestuia, prin împingerea lui tangențială. În continuare se scot cutiile

---

[1] Fenomen potrivit căruia valoarea actuală a unei mărimi depinde și de valorile anterioare ale mărimilor care o determină.

[2] Soluția poate fi folosită de mai multe ori, dacă, după efectuarea unei determinări, se titrează o fracțiune din ea cu o soluție de NaOH 0,1 n, stabilindu-se astfel concentrația la care a ajuns în urma pierderii apei către sol, iar restul soluției de H_2SO_4 se completează cu cantitatea de apă distilată necesară pentru refacerea concentrației inițiale de 10%. Cantitatea de apă ce trebuie adăugată (în ml) se calculează după relația:

$$\frac{(a-20{,}41 \cdot v) \cdot V}{a}$$

în care:

a = cantitatea de NaOH 0,1 n folosită la titrare (în ml);
V = cantitatea inițială de soluție de H_2SO_4 10% (în ml);
v = cantitatea de soluție de H_2SO_4 luată pentru titrare (în ml);
20,41 = cantitatea de soluție de NaOH 0,1 n cu care s-ar titra 1 ml de soluție de H_2SO_4 exact 10% (în ml).

Petri sau fiolele de cîntărit din exicator, se acoperă cu capacele lor și se cîntăresc. Se determină apoi umiditatea solurilor prin uscarea lor în termostat, conform procedeului descris la paragraful 1.3.3.6. Calculul se reduce la aflarea umidității, raportată la 100 g de sol uscat, care reprezintă chiar coeficientul de higroscopicitate.

Rezultatele obținute servesc la calcularea coeficientului de ofilire (prin înmulțirea coeficientului de higroscopicitate cu factorul empiric 1,47 după L. J. Briggs și H. L. Shantz, sau cu 1,50 după N. A. Kacinski), sau la aprecierea compoziției granulometrice a solului, pe baza relației dintre conținutul de argilă și coeficientul de higroscopicitate (tabelul 1.19).

TABELUL 1.19

Valorile caracteristice ale coeficientului de higroscopicitate pentru diferitele categorii texturale de sol

Categoria texturală de sol	Coeficientul de higroscopicitate (%)
Nisip	sub 2,0
Nisip lutos	2,1 — 2,0
Lut nisipos	3,1 — 5,0
Lut	5,1 — 8,0
Lut argilos	8,1 — 11,0
Argilă lutoasă	11,1 — 14,0
Argilă și argilă grea	peste 14,1

1.3.3.8.2. Determinarea coeficientului de ofilire pe cale vegetativă (procedeul Dolgov)

În cazul cînd cantitatea de apă din sol scade, se ajunge la un moment dat în situația ca apa să fie reținută energic de către sol prin forțe fizice, mai ales forțe de imbibiție, pe care planta nu le poate învinge. Înainte ca solul să devină total uscat, plantele manifestă simptome de suferință fiziologică, dintre care cel mai evident este ofilirea. Coeficientul de ofilire (umiditatea de ofilire) este o valoare care separă apa accesibilă plantei de cea foarte greu accesibilă sau inaccesibilă. După unii autori (L. J. Briggs și H. L. Shantz), coeficientul de ofilire are aceeași valoare pentru toate plantele care cresc pe același tip de sol, acest indice hidrofizic depinzînd de sol și nu de natura plantelor.

Modul de lucru. Se pun cîte 150—200 g de sol în pahare de material plastic, după care se umezește total solul din ele prin turnarea treptată a apei, pe măsura infiltrării ei, fără ca să se acopere toată suprafața solului: astfel aerul din sol este înlăturat total. În fiecare pahar se însămînțează cîte 10 cariopse încolțite de orz și se acoperă paharele cu cîte un carton pentru a evita evaporarea apei din sol pînă la răsărirea plantelor. În continuare plantele, care se udă la nevoie, trebuie să stea într-un loc bine luminat, pentru a se evita alungirea lor excesivă. În momentul cînd a doua frunză a acestor plante începe să depășească în lungime prima frunză, plantele sînt gata pentru experiment, rădăcinile lor fiind bine dezvoltate. Acum, se lasă în fiecare pahar cîte șase plantule dintre cele mai viguroase și se acoperă solul din pahare cu vată, după care se trec paharele într-un loc ferit de lumina directă a soarelui și se lasă acolo pînă la sfîrșitul experimentului, fără a se mai uda solul din interiorul lor. Primele simptome de suferință se manifestă prin lăsarea în jos a vîrfului primei frunze a plantelor. În acest moment cantitatea de apă din sol este coborîtă pînă la punctul de ofilire permanentă inițială. Cînd toate frunzele s-au ofilit și s-au lăsat în jos, pînă la jumătatea lungimii lor, ofilirea este

TABELUL 1.20

Valorile caracteristice ale coeficientului de ofilire pentru diferitele categorii texturale de sol

Categoria texturală de sol	Coeficientul de ofilire (%)
Nisip	1— 3
Nisip lutos	3— 6
Lut nisipos	6— 9
Lut	9—13
Lut argilos	13—15
Argilă lutoasă	15—19
Argilă, argilă grea	19—24

vădită și conținutul de apă din sol se află la limita inferioară a accesibilității ei pentru plante. Dacă paharele se trec în acest moment sub un clopot de sticlă sub care se crează o atmosferă umedă (prin așezarea sub clopot a unor cutii Petri deschise umplute cu apă, sau prin așezare de vată îmbibată cu apă), plantele își revin. Pentru a afla cantitatea apei din sol devenită inaccesibilă, plantele se mai lasă o zi în atmosferă liberă și în momentul cînd frunzele lor s-au lăsat în jos pe întreaga lor lungime, se ajunge la punctul de ofilire permanentă ultimă. În această situație plantele nu-și mai revin dacă sînt readuse într-o atmosferă umedă. În acest moment se scoate solul din pahare, se îndepărtează din el rădăcinile și celelalte resturi organice și se determină umiditatea lui, după procedeul indicat în paragraful 1.3.3.6. Valoarea umidității, exprimată în procente din masa solului uscat, reprezintă coeficientul de ofilire.

Valorile limită ale coeficientului de ofilire, în raport cu compoziția granulometrică a solurilor, sînt prezentate în tabelul 1.20. La turbe și la solurile saline valorile coeficientului de ofilire sînt mai mari decît la celelalte categorii texturale de sol.

Cunoașterea procentului de apă la punctul de ofilire permanentă ultimă, permite să se determine fracțiunea de apă din solul respectiv, care este accesibilă plantelor, adică apa disponibilă. În practica agricolă procedeul cel mai frecvent utilizat pentru determinarea coeficientului de ofilire, este cel bazat pe multiplicarea coeficientului de higroscopicitate cu factorul empiric 1,47 sau 1,50 (v. paragraful 1.1.3.3.8.1).

1.3.3.8.3. Determinarea capacității minime pentru apă a solurilor

Capacitatea minimă pentru apă este un indice hidrofizic care ilustrează cantitatea de apă pe care o poate absorbi și reține solul în spațiile sale capilare. Această cantitate de apă se raportează la solul absolut uscat.

Pentru determinarea capacității minime pentru apă se utilizează tubul Wolff-Wahnschaffe (fig. 1.55). Acesta este un cilindru (confecționat din zinc, aluminiu sau alamă) cu înălțimea de 15—18 cm și diametrul de 5—6 cm. Extremitatea inferioară a tubului este acoperită cu o plasă de sîrmă și prevăzută cu un manșon de metal care prezintă o serie de orificii laterale.

Modul de lucru. Înainte de a umple tubul cu solul a cărui capacitate minimă pentru apă urmează să fie determinată, se pune în interiorul lui, pe plasa de sîrmă, o bucată de hîrtie de filtru de dimensiunile fundului tubului. Se umectează apoi hîrtia de filtru, se scurge surplusul de apă de pe ea și se cîntărește tubul astfel pregătit. După cîntărire se umple tubul

cu solul de analizat. Umplerea tubului se face în trei reprize, luînd de fiecare dată cantităţi de sol aproximativ egale. După luarea fiecărei porţiuni de sol, se bate tubul de cîte 20 de ori cu baza de o bucată de cauciuc sau de pîslă, pentru ca solul să se aşeze uniform. După ce tubul s-a umplut cu sol pînă la semnul circular aflat pe partea sa interioară la distanţa de 1 cm de la gura lui, se cîntăreşte pentru a stabili cantitatea de sol luată la determinare. Dacă se lucrează cu soluri bogate în humus, umplerea se face pînă la o distanţă de 2 cm de gura tubului, ca să rămînă spaţiu suficient pentru eventuala mărire de volum a solului. Se scufundă apoi tubul într-un vas cu apă, în aşa fel ca nivelul acesteia să se ridice peste plasa de sîrmă a tubului cu 1 cm. Pentru a împiedica evaporarea apei din solul aflat în tub, acesta se acoperă cu o sticlă de ceas. Se lasă tubul în apă pînă cînd aceasta s-a urcat pînă la suprafaţa solului din el, fapt ce se recunoaşte după închiderea la culoare a acestuia. Apa se ridică pînă la suprafaţa solului în decurs de 24—48 de ore. În acest interval de timp nivelul ei în vasul în care se găseşte tubul trebuie menţinut cît mai constant posibil.

Fig. 1.55. Tubul Wolff — Wahnschaffe.

După ce spaţiile capilare din sol s-au umplut cu apă, se scoate tubul din vasul cu apă, se şterge pe dinafară cu hîrtie sugativă şi se aşază pe o bucată de hîrtie de filtru, lăsîndu-l în repaus timp de o oră, ca să se scurgă apa care a pătruns în spaţiile necapilare ale solului aflat în porţiunea inferioară a tubului. În acest timp tubul va fi ţinut în continuare acoperit cu sticla de ceas. După acest interval de timp se şterge din nou tubul cu o hîrtie sugativă de picăturile de apă care pot rămîne pe el şi se cîntăreşte (fără sticla de ceas). Pentru a verifica dacă s-a scurs toată apa din spaţiile necapilare ale solului, se acoperă din nou tubul cu sticla de ceas, se lasă în repaus 30 de minute şi după aceea se face o nouă cîntărire. Dacă masa tubului cu sol a rămas neschimbată, se trece la calcularea capacităţii minime pentru apă, iar în caz contrar se repetă operaţia amintită pînă se ajunge la masă constantă. Toate datele referitoare la rezultatele cîntăririlor se trec într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 1.21. Întrucît capacitatea minimă pentru apă se raportează la

TABELUL 1.21

Determinarea capacităţii minime pentru apă a solului

Masa tubului gol (g)	Masa iniţială a tubului cu sol (g)	Masa tubului cu solul saturat cu apă (g)	Masa solului saturat cu apă A (g)	Masa solului absolut uscat din tub B (g)	Capacitatea minimă pentru apă (%)
		[1]			

[1] În această coloană se notează rezultatele cîntăririlor pînă în momentul cînd solul din tub, cu spaţiile capilare umplute cu apă, ajunge la masă constantă.

solul absolut uscat, este necesar să se determine în paralel, pe o probă din același sol, umiditatea solului analizat, după procedeul prezentat în paragraful 1.3.3.6.

Calcularea capacității minime pentru apă se face cu ajutorul formulei:

$$\frac{(A-B)\cdot 100}{B},$$

în care:

A = masa solului umed din tub, în grame (masa tubului cu sol umed — tara tubului);

B = masa solului absolut uscat din tub, în grame (se calculează printr-o regulă de trei simplă, pe baza datelor obținute la determinarea umidității solului);

100 = coeficient pentru exprimarea rezultatului în procente.

1.3.3.8.4. Determinarea capacității totale pentru apă a solurilor

Această stare de umiditate a solului se atinge în cazul cînd apa umple toate interstițiile lui, astfel încît solul este lipsit de aer. În natură această situație se întîlnește doar în timpul ploilor de durată, inundațiilor sau topirii bruște a zăpezilor, cînd apa băltește la suprafața solului. Capacitatea totală pentru apă cuprinde deci toate formele de apă din sol: apa liberă sau gravitațională, apa de capilaritate, apa de imbibiție și apa legată chimic (apa de constituție).

Procedeul de determinare se aseamănă cu cel prezentat pentru determinarea capacității minime pentru apă (v. paragraful 1.3.3.8.3), cu deosebirea că, după umplerea cu sol, tubul Wolff-Wahnschaffe se introduce într-un vas cu apă în așa fel ca nivelul apei din vas să fie la înălțimea suprafeței solului din tub și să fie menținut, pe cît posibil, constant. Se lasă tubul în apă pînă cînd aceasta ajunge la suprafața solului din el. Se scoate apoi tubul din apă, se lasă așezat pe o hîrtie de filtru pînă se scurge excesul de apă de pe suprafața solului din el, se șterge apa rămasă pe peretele tubului și se cîntărește tubul cu solul saturat cu apă. Întrucît capacitatea totală pentru apă se raportează la solul absolut uscat, este necesar să se determine în paralel, pe o probă din același sol, umiditatea solului de cercetat, după procedeul prezentat în paragraful 1.3.3.6. Datele referitoare la rezultatele cîntăririlor se trec într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 1.21, cu deosebire că în ultima coloană a acestuia se va nota capacitatea totală pentru apă (în %). Calcularea acestui indice hidrofizic se face cu ajutorul formulei prezentate în paragraful 1.3.3.8.3.

1.3.3.8.5. Determinarea capacității pentru apă a solurilor în cîmp

Prin capacitatea pentru apă în cîmp se înțelege cantitatea de apă pe care o poate reține un sol în condiții naturale pentru o perioadă mai lungă de timp. Acest indice hidrofizic se determină prin inundarea unei suprafețe de teren de 1 m², perfect orizontală, delimitată prin două rame me-

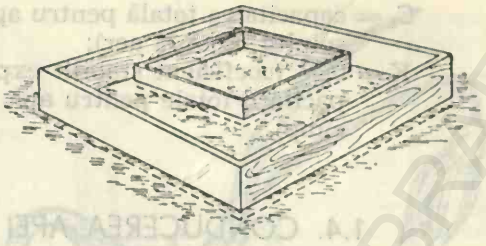


Fig. 1.56. Rame pentru determinarea capacității pentru apă în cîmp.

talice, una cu laturile de 1,40 m, iar cealaltă, amplasată în interiorul spațiului delimitat de prima ramă, cu laturile de 1 m. Aceste rame se introduc în sol pe o adîncime de 5 cm (fig. 1.56). Spațiul dintre cele două rame se umple cu apă pînă la înălțimea de 5 cm și se menține acest strat de apă la nivel, pe cît posibil constant, pînă cînd solul delimitat de rama interioară se umectează în exces. După infiltrarea apei în solul delimitat de rama interioară, se acoperă suprafața lui cu un strat de paie, gros de 6—8 cm, pentru a împiedica fenomenul de evaporare. În funcție de tipul de sol, se determină umiditatea acestuia (pe probe luate cu ajutorul unei sonde pentru fiecare strat: 0—20 cm, 20—40 cm, 40—60 cm, începînd de la adîncimea de 10—20 cm) prin procedeul prezentat în paragraful 1.3.3.6, după o zi în cazul solurilor nisipoase, 3—4 zile în cazul celor luto-nisipoase și după 5—7 zile în cazul solurilor argiloase. Valoarea umidității stabilite, exprimată în procente și raportată la solul absolut uscat, reprezintă capacitatea pentru apă în cîmp.

Întrucît acest procedeu este destul de greoi și durează un timp mai îndelungat, capacitatea pentru apă în cîmp se poate determina printr-un procedeu de laborator, care dă rezultate la fel de precise.

Pentru determinare se iau într-o capsulă, dintr-o probă medie, 5 g de sol uscat la aer și dintr-o pipetă, în care s-au luat 5 ml de apă, se toarnă peste el apa, picătură cu picătură, pînă cînd aceasta apare la suprafața lui, deci pînă în momentul în care solul ajunge la capacitatea totală pentru apă. Se notează în acest moment volumul de apă adăugat peste sol, cu o precizie de 0,1 ml, și se transformă acest volum în grame, considerînd că 1 ml de apă este egal cu un gram, întrucît densitatea apei variază în limite foarte mici în raport cu variațiile de temperatură. Pe baza valorii obținute se calculează întîi capacitatea totală pentru apă a solului, după formula:

$$C_t = \frac{m_a \cdot 100}{m_s},$$

în care:

C_t = capacitatea totală pentru apă a solului (în procente față de masa solului uscat la aer);
m_a = masa apei utilizate la saturarea probei (în grame);
m_s = masa probei de sol (în grame);
100 = factor pentru raportarea rezultatului în procente.

Cunoscînd capacitatea totală pentru apă a solului, se calculează capacitatea lui pentru apă în cîmp, cu ajutorul formulei:

$$C_c = C_t \cdot K,$$

în care:

C_c = capacitatea solului pentru apă în cîmp (în procente din masa solului absolut uscat);

C_t = capacitatea totală pentru apă a solului (în procente față de masa solului uscat la aer);

K = 0,43 (coeficient stabilit experimental, pentru transformarea capacității totale pentru apă a solului în capacitate pentru apă în cîmp).

1.4. CONDUCEREA APEI ÎN CORPUL PLANTELOR

Apa absorbită din mediu este condusă în întreaga plantă, prin fiecare celulă și prin fiecare organ. Dacă plantele se află în condiții normale, pe măsură ce apa absorbită este eliminată din corpul lor (în proporție de pînă la 99%), noi cantități de apă absorbită îi iau locul, astfel încît, în stare de vegetație sau de viață activă, prin organismul vegetal trece un curent continuu de apă.

La talofitele neseptate conducerea apei poate avea loc numai pe cale intraprotoplasmatică (adică prin interiorul celulelor), iar la cele septate și la cormofite poate avea loc pe cale combinată, intra și extraprotoplasmatică. Calea intraprotoplasmatică permite doar o conducere lentă a apei, dar asigură „controlul" fiziologic asupra vitezei de absorbție a apei, cît și asupra naturii substanțelor dizolvate absorbite. Calea extraprotoplasmatică constă în conducerea apei realizată prin imbibiție (pe suprafața sau prin pereții celulozici) și prin difuzie prin spațiul liber apos (prin meaturile existente între celule). Această conducere extraprotoplasmatică este mai rapidă și mai „economică" în sensul că reprezentînd o mișcare pasivă a apei, nu necesită un consum de energie din partea plantelor. În afara acestor căi, la cormofite au apărut elemente specializate în conducerea apei pe distanțe mari. Ele sînt reprezentate de vasele de lemn, care, fiind lipsite de un conținut viu, permit conducerea unui volum mare de apă și cu viteză sporită: este translocația sevei brute, care se interpune între conducerea orizontală a apei în parenchimurile radiculare și conducerea ei în sens orizontal în parenchimurile organelor supraterane.

1.4.1. CONDUCEREA APEI PRIN VASELE DE LEMN

Conducerea apei prin vasele de lemn se poate evidenția prin următoarele procedee:

a. Se secționează, conform procedeului prezentat în figura 1.57 a, sub o soluție colorată (eosină 0,1% sau fucsină 0,1%) pedunculul unei flori albe (ghiocel, lăcrămioară etc.) și, lăsîndu-l cu baza în colorant, se constată, după un timp, că nervurile petalelor se colorează în roșu, ceea ce demonstrează că apa colorată circulă prin xilem (fig. 1.57 b). Se poate folosi și un fragment de tulpină tînără etiolată (de fasole, lupin etc. crescute la întuneric) care se introduce cu un capăt într-o soluție diluată a unui colorant și se suge soluția prin celălalt capăt al fragmentului. În secțiune transversală prin acest fragment se vor putea observa, cu ochiul liber, o mulțime de punctișoare colorate, care corespund fasciculelor conducătoare lemnoase (fig. 1.57 c).

b. Se taie cinci segmente dintr-o ramură de soc, liliac sau de oțetar, astfel ca să prezinte la nodul superior muguri intacți (fig. 1.58 a), după

care se operează astfel: la unul se îndepărtează, pe o distanță de 2 cm de la bază, scoarța și liberul, ca să rămînă dezvelit lemnul (fig. 1.58 b); la următorul se distruge doar măduva, prin presarea ei cu o baghetă, pe aceeași distanță de la partea bazală a fragmentului (fig. 1.58 c); la al treilea se îndepărtează scoarța, liberul și măduva, rămînînd numai lemnul ca un cilindru (fig. 1.58 d); la al patrulea se fac de-a lungul unei linii în spirală, de jur împrejur, secțiuni care să afecteze și lemnul și care să se depășească cu marginile una pe alta, astfel ca să nu rămînă nesecționat nici un vas de lemn (fig. 1.58 e), iar al cincilea segment se lasă intact și reprezintă martorul experimentului (fig. 1.58 f). Se introduce fiecare segment cu baza în cîte un vas cu apă, astfel ca aceasta să nu ajungă în porțiunea lor neoperată și se lasă în repaus, schimbîndu-le zilnic apa. După 3—4 săptămîni se va constata că mugurii s-au desfăcut la toate segmentele, în afară de cel la care a fost secționat lemnul (fig. 1.58 e).

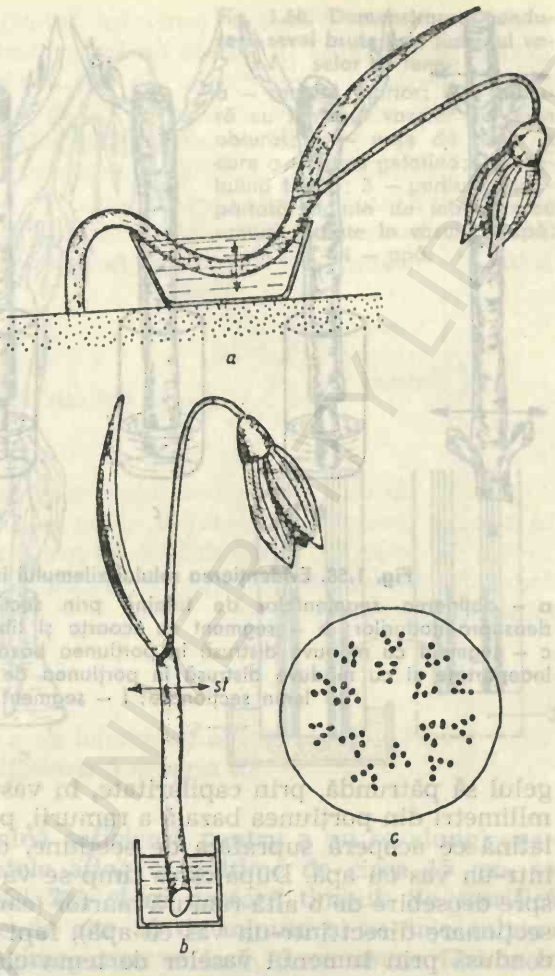


Fig. 1.57. Evidențierea conducerii apei prin vasele de lemn:

a — reprezentarea modului de secționare a tulpinii sub nivelul unui colorant (săgeata indică locul în care se face secționarea); b — colorarea nervurilor de la nivelul petalelor demonstrează că seva brută este condusă prin țesuturile conducătoare din nervuri; c — secțiunea transversală prin tulpină (st) demonstrează că seva brută este condusă prin xilem.

c. Se taie dintr-o frunză de liliacee *(Aspidistra)* sau de graminee (porumb) două segmente dreptunghiulare, cu laturile de 6/4 cm, astfel ca la unul nervurile să fie paralele cu latura mare, iar la celălalt cu latura mică. Se introduc cu una din laturile mici într-un vas care conține un strat subțire de apă și se lasă în repaus. După un timp, se va constata că segmentul care nu are nervurile implîntate cu un capăt în apă se ofilește la extremitatea situată în aer, în timp ce celălalt rămîne turgescent (fig. 1.59), fapt ce demonstrează că apa poate fi condusă la distanțe mari prin vasele de lemn, în timp ce conducerea ei de la celulă la celulă se face anevoios.

d. Se introduce baza unei ramuri tinere (de exemplu de viță de vie) într-un vas cu gelatină topită (la 30°C), unde se lasă un timp pentru ca

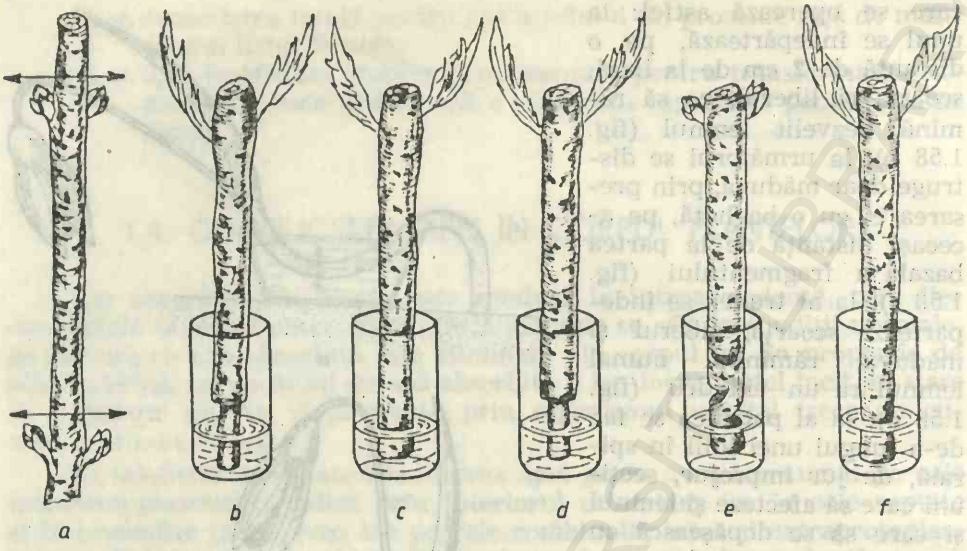


Fig. 1.58. Evidențierea rolului xilemului în conducerea sevei brute:
a – obținerea segmentelor de tulpină prin secționarea ramurilor de *Sambucus nigra* deasupra nodurilor; b – segment cu scoarța și liberul îndepărtate la porțiunea bazală; c – segment cu măduva distrusă în porțiunea bazală; d – segment cu scoarța și liberul îndepărtate și cu măduva distrusă în porțiunea de la bază; e – segment cu vasele de lemn secționate; f – segment intact (martor).

gelul să pătrundă, prin capilaritate, în vasele de lemn. Se taie apoi cîțiva milimetri din porțiunea bazală a ramurii, pentru a îndepărta stratul de gelatină ce acoperă suprafața de secțiune, după care se introduce ramura într-un vas cu apă. După cîtva timp se va constata că ramura se ofilește, spre deosebire de o altă ramură martor (care a fost introdusă imediat după secționare direct într-un vas cu apă), fapt ce demonstrează că numai apa condusă prin lumenul vaselor de lemn circulă în cantitatea și cu viteza necesară pentru a asigura turgescența celulelor situate la distanțe mari (fig. 1.60).

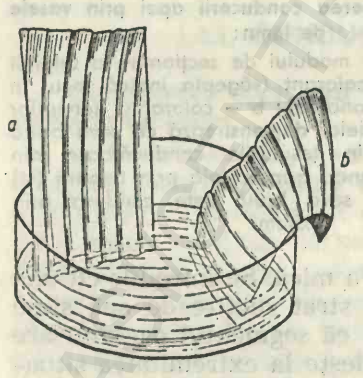


Fig. 1.59. Demonstrarea rolului nervurilor în conducerea apei în frunze:
a – țesuturile, primind apă prin nervuri, rămîn turgescente; b – în lipsa apei țesuturile se ofilesc.

1.4.2. VITEZA DE CONDUCERE A SEVEI BRUTE

Viteza de conducere a apei variază în funcție de specie, iar la aceeași specie variază mult atît în timpul zilei cît și al anului.

Admițînd că substanțele dizolvate în seva brută sînt conduse cu aceeași viteză ca și apa, ceea ce nu este totdeauna exact, se poate urmări viteza de conducere a sevei brute prin următorul procedeu:

Se seamănă un număr de semințe ale unei plante (orz, ovăz, porumb, floarea soarelui, fasole, bob etc.) într-un vas de vegeta-

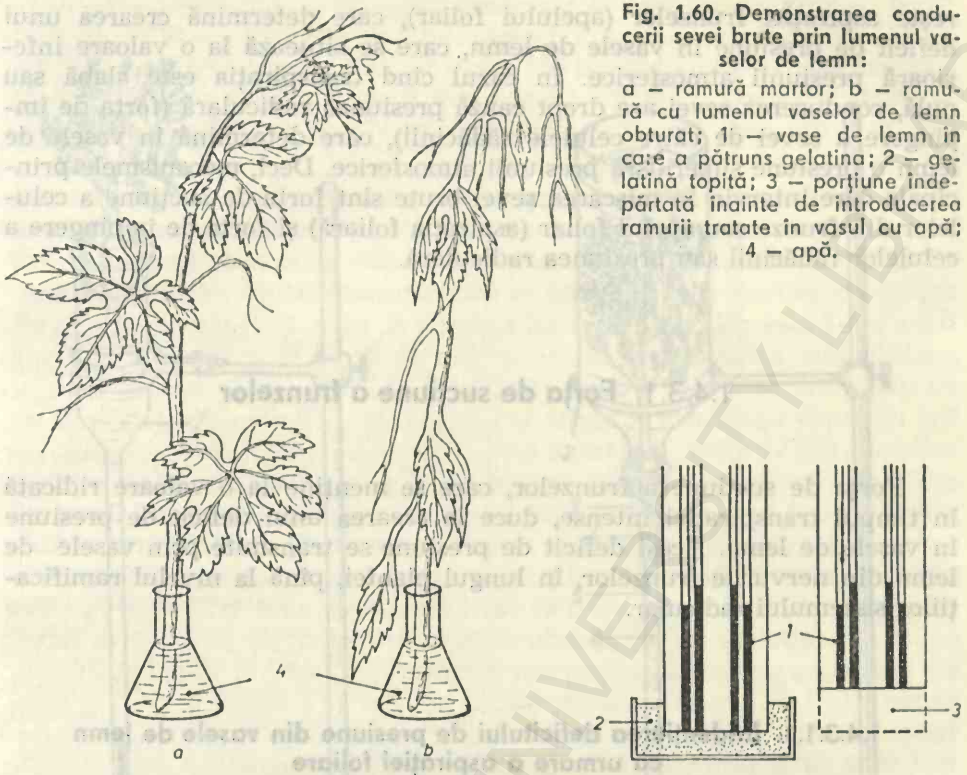


Fig. 1.60. Demonstrarea conducerii sevei brute prin lumenul vaselor de lemn:
a – ramură martor; b – ramură cu lumenul vaselor de lemn obturat; 1 – vase de lemn în care a pătruns gelatina; 2 – gelatină topită; 3 – porțiune îndepărtată înainte de introducerea ramurii tratate în vasul cu apă; 4 – apă.

ție și se lasă să crească în lumină suficientă pentru a nu se alungi exagerat. În momentul cînd plantele ating o înălțime de circa 15 cm, se adaugă în sol o soluție de LiCl 2% și se notează timpul. Se sacrifică apoi cîte o plantă la intervale de cîte 30 de minute și se taie tulpina ei în segmente de 0,5 cm lungime, care se lasă să se usuce fără a le deranja în poziția lor normală, în ceea ce privește succesiunea acestora. După uscare se arde fiecare segment, începînd cu cel de la baza tulpinii, în flacăra unui bec de gaz. Culoarea roșie a flăcării va indica prezența litiului, în cazul cînd acesta a fost condus pînă la nivelul segmentului respectiv. După culoarea flăcării se stabilește înălțimea pînă la care a ajuns litiul în tulpina plantelor și pe această bază se calculează viteza de deplasare a sevei brute, ținînd cont de timpul care a trecut de la momentul începerii experimentului. Rezultatul se exprimă în cm/h.

1.4.3. MECANISMELE CARE CONTRIBUIE LA ASCENSIUNEA SEVEI BRUTE

Există o legătură strînsă între intensitatea transpirației și presiunea sevei brute din vasele de lemn. Această legătură rezultă din faptul că în cazul cînd intensitatea transpirației este mare, mișcarea sevei se dato-

reşte aspiraţiei frunzelor (apelului foliar), care determină crearea unui deficit de presiune în vasele de lemn, care se situează la o valoare inferioară presiunii atmosferice. În cazul cînd transpiraţia este slabă sau nulă, conducerea sevei are drept cauză presiunea radiculară (forţa de împingere a sevei de către celulele rădăcinii), care determină în vasele de lemn o presiune superioară presiunii atmosferice. Deci, mecanismele principale care intervin în mişcarea sevei brute sînt forţa de sucţiune a celulelor din frunze sau apelul foliar (aspiraţia foliară) şi forţa de împingere a celulelor rădăcinii sau presiunea radiculară.

1.4.3.1. Forţa de sucţiune a frunzelor

Forţa de sucţiune a frunzelor, care se menţine la o valoare ridicată în timpul transpiraţiei intense, duce la crearea unui deficit de presiune în vasele de lemn. Acest deficit de presiune se transmite prin vasele de lemn din nervurile frunzelor, în lungul plantei, pînă la nivelul ramificaţiilor sistemului radicular.

1.4.3.1.1. Evidenţierea deficitului de presiune din vasele de lemn ca urmare a aspiraţiei foliare

Starea de deficit de presiune din vasele de lemn, ca urmare a unei transpiraţii intense, poate fi evidenţiată prin următoarele procedee:

a. Se secţionează sub nivelul unei soluţii colorate o tulpină de ghiocel sau de lăcrămioară, conform procedeului descris în paragraful 1.4.1. a şi, lăsînd-o cu baza în colorant, se constată că după un timp acesta ajunge pînă în nervurile petalelor, ca urmare a transpiraţiei ce se desfăşoară la nivelul acestora (fig. 1.57 b).

b. Se secţionează sub nivelul unei soluţii colorate, conform procedeului prezentat în figura 1.57 a, o tulpină etiolată de fasole sau bob. Scoţînd după circa 10 minute din soluţie cele două segmente rezultate în urma secţionării, se constată că soluţia colorată a pătruns atît în segmentul dinspre ciotul tulpinii cît şi în cel apical, fapt ce demonstrează că deficitul de presiune din vasele de lemn ale plantei exista înainte de secţionare.

c. La un tub asemănător cu cel utilizat la confecţionarea „osmometrului" de tip Dutrôchet se ataşează etanş, cu ajutorul unui dop de cauciuc cu orificiu corespunzător şi cu tăietură laterală, o ramură de *Thuja* (care, dacă este necesar, se etanşează prin parafinarea dopului), după care se introduce în tub prin capătul celălalt apă fiartă şi răcită (pentru eliminarea gazelor dizolvate în ea). După umplerea tubului pînă la refuz, se astupă capătul îngust al acestuia cu un deget şi se introduce într-o cuvă cu mercur, după care se fixează tubul la un stativ (fig. 1.61).

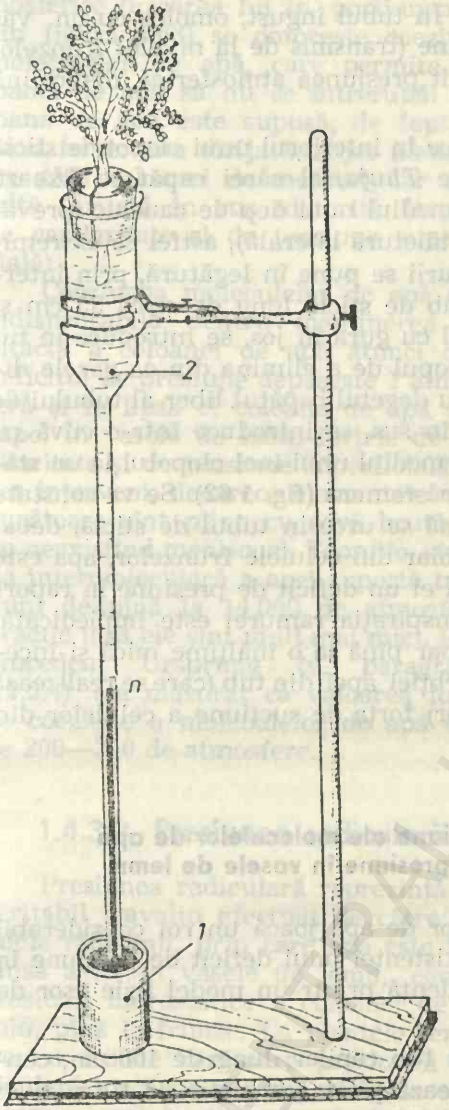


Fig. 1.61. Evidențierea aspirației foliare a sevei brute:

1 — vas de porțelan cu mercur; 2 — apă fiartă și răcită; n — nivelul mercurului urcat în tub în locul apei eliminate prin transpirație de către ramura fixată în dispozitiv.

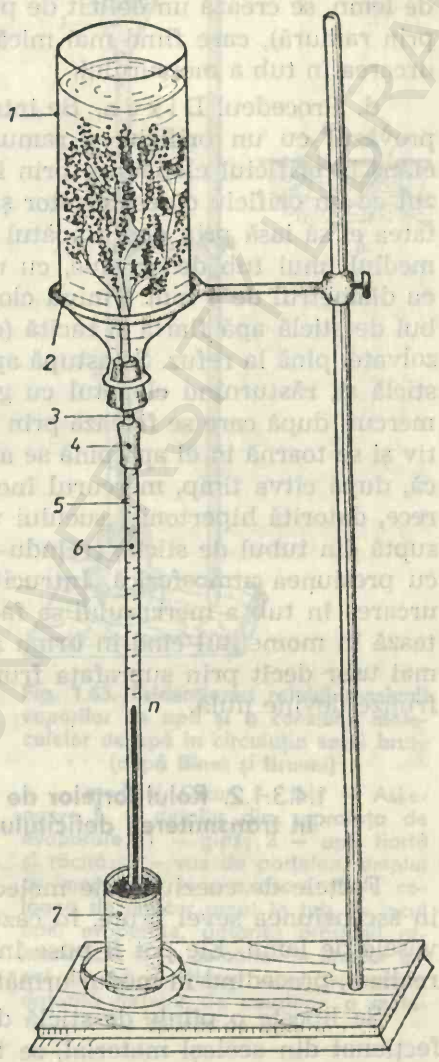


Fig. 1.62. Evidențierea rolului forței de sucțiune a aparatului foliar în ascensiunea sevei brute (procedeul Dixon):

1 — clopot de sticlă umplut cu apă pentru a împiedica transpirația ramurii; 2 — inel metalic care susține clopotul; 3 — capătul ramurii, care străbate dopul; 4 — tub de cauciuc; 5 — tub de sticlă; 6 — apă fiartă și răcită; 7 — vas din porțelan, umplut cu mercur; n — nivelul mercurului, care urcă în tub în locul apei absorbite de către celulele frunzelor.

După un timp se constată că mercurul începe să se ridice în porțiunea îngustă a tubului, ca urmare a faptului că apa eliminată prin transpirația ramurei este înlocuită cu apa din tub. În tubul îngust, omolog cu un vas de lemn, se crează un deficit de presiune (transmis de la nivelul frunzelor prin ramură), care fiind mai mică decît presiunea atmosferică, determină urcarea în tub a mercurului.

d. Procedeul D i x o n. Se introduce în interiorul unui clopot de sticlă prevăzut cu un orificiu, o ramură de *Thuja*, al cărei capăt se fixează etanș în orificiul clopotului prin intermediul unui dop de cauciuc (prevăzut cu un orificiu corespunzător și cu tăietură laterală), astfel ca extremitatea ei să iasă prin dop. Capătul ramurii se pune în legătură, prin intermediul unui tub de cauciuc, cu un tub de sticlă lung de circa 35 cm și cu diametrul de 4 mm. Ținînd clopotul cu gura în jos, se introduce în tubul de sticlă apă fiartă și răcită (cu scopul de a elimina din ea gazele dizolvate) pînă la refuz. Se astupă apoi cu degetul capătul liber al tubului de sticlă și, răsturnînd clopotul cu gura în sus, se introduce într-o cuvă cu mercur, după care se fixează prin intermediul unui inel clopotul la un stativ și se toarnă în el apă pînă se acoperă ramura (fig. 1.62). Se va constata că, după cîtva timp, mercurul începe să se urce în tubul de sticlă, deoarece, datorită hipertoniei sucului vacuolar din celulele frunzelor, apa este suptă din tubul de sticlă, creîndu-se în el un deficit de presiune în raport cu presiunea atmosferică. Întrucît transpirația ramurei este împiedicată, urcarea în tub a mercurului se face doar pînă la o înălțime mică și încetează în momentul cînd în urma absorbției apei din tub (care se realizează mai ușor decît prin suprafața frunzelor) forța de sucțiune a celulelor din frunze devine nulă.

1.4.3.1.2. Rolul forțelor de coeziune ale moleculelor de apă în transmiterea deficitului de presiune în vasele de lemn

Forțele de coeziune ale moleculelor de apă joacă un rol considerabil în ascensiunea sevei brute, în cazul existenței unui deficit de presiune în vasele de lemn. Ele pot fi puse în evidență printr-un model fizic ușor de realizat, procedînd în modul următor:

Se lipește o pîlnie de sticlă de un tub capilar, lung de 100 cm, confecționat din același material, se tapetează pîlnia cu hîrtie de filtru și se toarnă în ea o pastă de gips. După solidificarea gipsului se umple tubul pînă la refuz cu apă fiartă și răcită (pentru a scoate gazele dizolvate în ea) și apoi, astupînd cu un deget capătul lui inferior, se introduce tubul cu baza într-o cuvă cu mercur și se fixează la un stativ (fig. 1.63). Întrucît la suprafața gipsului apa se evaporă, iar meniscurile apei din porii lui își mențin constant concavitățile inițiale (datorită forțelor de capilaritate și de tensiune superficială), apa din tubul de sticlă va înlocui permanent apa evaporată și, ca rezultat, mercurul se urcă în tub. Atît timp cît înălțimea coloanei de mercur nu depășește circa 760 mm (presiunea hidrostatică de 1 atmosferă), modelul descris funcționează ca un tub Toricelli, în care urcarea mercurului se datorește presiunii atmosferice. Urcarea

mercurului la înălțimi care depășesc valoarea corespunzătoare presiunii atmosferice (urcarea lui în porțiunea h' din figura 1.63) se datorește coeziunii moleculelor de apă, care permite coloanei de apă să nu se întrerupă. Coloana de apă este supusă, de fapt, la două forțe: una dirijată în jos (datorită greutății coloanei de mercur), iar cealaltă dirijată în sus (datorită forțelor de capilaritate și de tensiune superficială).

Coeziunea moleculelor de apă este indispensabilă pentru menținerea intactă a coloanei de apă atunci cînd deficitul de presiune depășește 1 atmosferă și în lipsa ei coloana de apă s-ar rupe. În vasele de lemn forțele de capilaritate și de tensiune superficială nu pot interveni, deoarece elementele conducătoare sînt pline cu sevă brută, în ele neexistînd meniscuri. Teoretic, atracția intermoleculară a apei suportă tracțiuni de pînă la 14 000 de atmosfere, practic însă ele sînt mult mai mici. Prin procedeul Ursprung (v. paragraful 1.2.2.4) s-a măsurat că valoarea forței de coeziune a moleculelor de apă este de 200—300 de atmosfere.

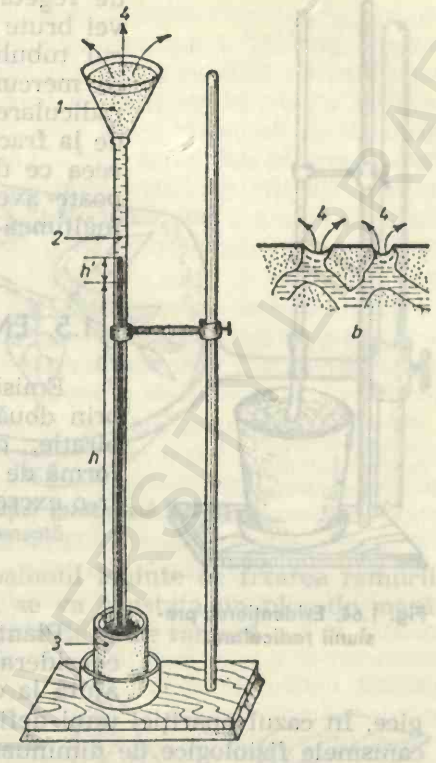


Fig. 1.63. Evidențierea rolului tensiunii vaporilor de apă și a coeziunii moleculelor de apă în circulația sevei brute (după Binet și Brunel):

a — modelul Dixon — Joly — Askenasy; b — detaliu din suprafața de evaporare; 1 — gips; 2 — apă fiartă și răcită; 3 — vas de porțelan, umplut cu mercur; 4 — evaporare; h — coloana de mercur urcat în tub, în locul apei evaporate, datorită presiunii atmosferice; h' — coloana de mercur urcat în tub, în locul apei evaporate, datorită forțelor de coeziune a moleculelor de apă.

1.4.3.2. Presiunea radiculară

Presiunea radiculară reprezintă un veritabil travaliu efectuat de către celulele rădăcinii, prin care apa este împinsă activ în vasele de lemn, contra presiunii hidrostatice a coloanei de lichid, pînă la frunze. La plantele terestre cu frunze căzătoare presiunea radiculară joacă un rol important în conducerea apei în timpul primăverii, cînd transpirația este redusă la cea prin lenticele, practic neglijabilă. Teoretic, transpirația și presiunea radiculară nu pot coexista. În realitate însă, din cauza rezistenței întîmpinate de coloana de sevă brută, în urma frecării ei de pereții vaselor de lemn, se ajunge în situația ca în cazul cînd transpirația este slabă deficitul de apă din vasele de lemn să nu se transmită pînă la rădăcini și în acest caz cele două procese se completează.

În laborator, presiunea radiculară se poate pune în evidență astfel: Se secționează, la circa 3 cm de la suprafața solului, tulpina unei plante de *Pelargonium*, crescută într-un vas de vegetație. Ciotul tulpinii se prelungește, prin intermediul unui tub de cauciuc, cu un tub de sticlă fixat în poziție verticală la un stativ. Se umectează bine solul din vasul

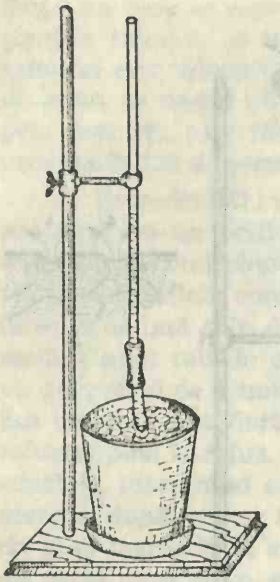


Fig. 1.64. Evidențierea presiunii radiculare.

de vegetație și se constată, în curînd, urcarea sevei brute în tubul de sticlă (fig.1.64). Dacă în locul tubului de sticlă se atașează un manometru cu mercur, se poate determina valoarea presiunii radiculare. Aceasta variază în funcție de specie, de la fracțiuni de atmosferă pînă la 10 atmosfere, ceea ce denotă că urcarea sevei brute în plante poate avea loc, datorită acestei presiuni, pînă la înălțimea de circa 100 m[1].

1.5. EMISIUNEA APEI DE CĂTRE PLANTE

Emisiunea apei de către plante se realizează prin două mecanisme: în mod curent prin transpirație, care reprezintă emisiunea de apă sub formă de vapori și uneori prin gutație, adică printr-o excreție de apă lichidă.

1.5.1. TRANSPIRAȚIA

Plantele elimină prin transpirație cantități considerabile de apă. În condiții normale aceasta ajută la desfășurarea optimă a proceselor fiziologice. În cazul apariției unui deficit de apă în substrat, deși intervin mecanismele fiziologice de diminuare a transpirației, plantele prezintă simptome de suferință. De aceea, avînd în vedere efectele favorabile ale acestui proces în viața plantelor, transpirația a fost considerată de K. A. Timiriazev ca „un rău necesar".

1.5.1.1. Evidențierea transpirației

Transpirația poate fi pusă în evidență printr-o serie de procedee foarte simple, dintre care unele pot sluji și ca procedee de determinare a intensității absorbției apei, deoarece circa 99% din apa absorbită de către plante este eliminată prin transpirație.

a. *Condensarea pe un perete rece a vaporilor de apă emiși (procedeul Hales).* Se introduce într-un balon Erlenmeyer o ramură cu frunze, nedetașată de plantă și se astupă gura balonului cu un dop de cauciuc prevăzut cu un orificiu cu tăietură laterală prin care trece ramura. La nevoie se parafinează dopul pentru a realiza o bună etanșare și se așază apoi balonul în poziție convenabilă pe inelul unui stativ. După un timp, vaporii de apă emiși în urma transpirației frunzelor se condensează pe pereții ba-

[1] O atmosferă echivalează cu circa 10 m coloană de apă. Valoarea reală la care se poate ridica seva brută datorită presiunii radiculare este însă mai mică, din cauza frecării moleculelor de apă de pereții vaselor de lemn.

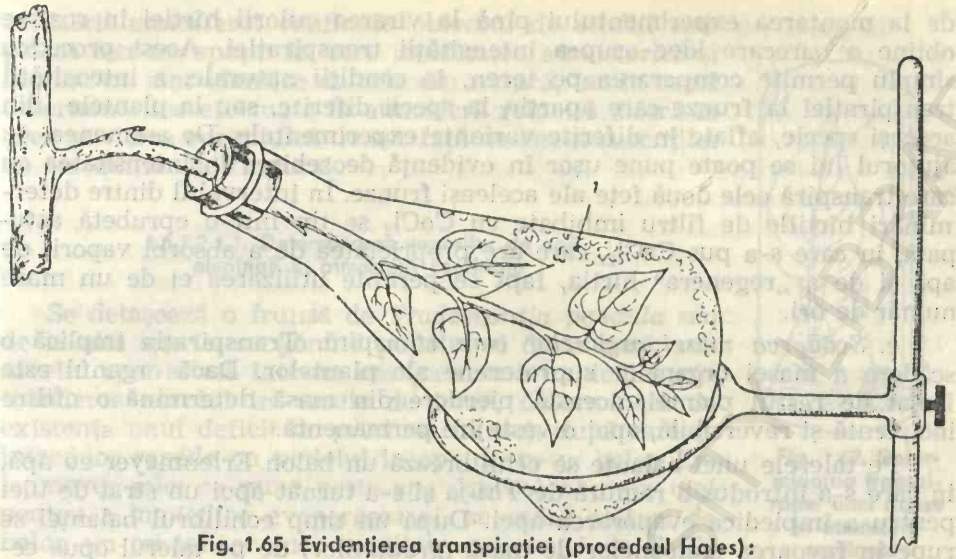


Fig. 1.65. Evidențierea transpirației (procedeul Hales):
1 – apă condensată.

lonului (fig. 1.65)[1]. Dacă se cîntărește balonul înainte de fixarea ramurii în el și se recîntărește după 24 de ore, se va constata un plus de masă care reprezintă cantitatea de apă transpirată de către ramură.

b. *Modificarea culorii unei substanțe simpatice (procedeul Stahl).* Substanțele simpatice sînt cele care în stare hidratată au o culoare, iar în stare anhidră altă culoare, cum este cazul sărurilor de cobalt.

Pentru evidențierea transpirației prin acest procedeu, se taie pătrate cu latura de 1 cm dintr-o hîrtie de filtru impregnată în prealabil cu o soluție de $CoCl_2$ 5% și uscată după impregnare. În această stare anhidră (uscată) substanța conferă hîrtiei o culoare albastră. Se fixează pe suprafața unei frunze o astfel de hîrtie, cu ajutorul unei lamele, ale cărei margini au fost unse în prealabil cu vaselină, pentru a realiza o bună etanșare (fig. 1.66). După un timp se constată că hîrtia își schimbă treptat culoarea în roz, deoarece $CoCl_2$ s-a hidratat cu vaporii de apă emiși de frunză prin transpirație. Dacă se măsoară cu un cronometru timpul scurs

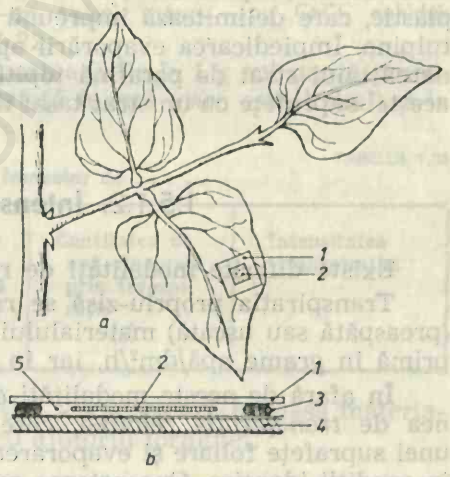


Fig. 1.66. Evidențierea transpirației și determinarea intensității ei prin procedeul Stahl:
a – aplicarea hîrtiei impregnată cu soluție de $CoCl_2$ pe suprafața limbului frunzei; b – detaliu; 1 – lamelă; 2 – hîrtie simpatică (impregnată cu $CoCl_2$); 3 – vaselină; 4 – limbul frunzei; 5 – „camera" de transpirație.

[1] Aceeași constatare se poate face introducînd sub un clopot de sticlă un ghiveci cu o plantă, după ce în prealabil s-a izolat suprafața solului din el, prin acoperire cu parafină topită, pentru a împiedica evaporarea apei la acest nivel.

de la montarea experimentului pînă la virarea culorii hîrtiei în roz, se obține o oarecare idee asupra intensității transpirației. Acest procedeu simplu permite compararea pe teren, în condiții naturale, a intensității transpirației la frunze care aparțin la specii diferite, sau la plantele din aceeași specie, aflate în diferite variante experimentale. De asemenea, cu ajutorul lui se poate pune ușor în evidență deosebirea în intensitatea cu care transpiră cele două fețe ale aceleași frunze. În intervalul dintre determinări hîrtiile de filtru imbibate cu $CoCl_2$ se țin într-o eprubetă astupată, în care s-a pus $CaCl_2$, care are proprietatea de a absorbi vaporii de apă și de a „regenera" hîrtia, fapt ce permite utilizarea ei de un mare număr de ori.

c. *Scăderea masei organelor care transpiră.* Transpirația implică o scădere a masei organelor supraterane ale plantelor. Dacă organul este izolat de restul plantei, această pierdere din masă determină o ofilire incipientă și reversibilă, apoi o vestejire permanentă.

Pe talerele unei balanțe se echilibrează un balon Erlenmeyer cu apă, în care s-a introdus o ramură de *Thuja* și s-a turnat apoi un strat de ulei pentru a împiedica evaporarea apei. După un timp echilibrul balanței se rupe în favoarea etaloanelor de masă (greutăților) de pe talerul opus celui pe care s-a pus balonul. Refacerea echilibrului, prin adăugarea de greutăți pe talerul cu planta, permite aflarea cantității de apă care a fost eliminată de ramură în intervalul de timp respectiv. Experimentul se poate realiza și cu o plantă întreagă, aflată într-un vas de vegetație smălțuit, al cărui sol se acoperă etanș cu două semicercuri din lemn sau din material plastic, care delimitează împreună un orificiu adecvat pentru a cuprinde tulpina. Împiedicarea evaporării apei din sol se poate realiza și prin turnarea unui strat de parafină topită pe suprafața lui, sau prin acoperirea acestei suprafețe cu un strat tasat de vată.

1.5.1.2. Intensitatea transpirației

Există diferite modalități de raportare a intensității transpirației:

Transpirația propriu-zisă se raportează fie la suprafața, fie la masa (proaspătă sau uscată) materialului vegetal. În funcție de suprafață se exprimă în grame apă/dm^2/h, iar în funcție de masă în mg apă/g/h.

În afară de aceste modalități de raportare se mai utilizează și noțiunea de *transpirație relativă*, care exprimă raportul dintre transpirația unei suprafețe foliare și evaporarea unui strat de apă cu aceeași supafață, în condiții identice. Cunoașterea acestui raport permite să se deducă dacă există sau nu o reglare a transpirației: dacă intensitatea transpirației se modifică, funcție de factorii influenți, ca și fenomenul fizic de evaporare, nu există nici o reglare fiziologică a acestui proces și invers. În general, transpirația relativă are o valoare cuprinsă între 0,1—0,5.

1.5.1.2.1. Determinarea directă a vaporilor de apă eliminați

Determinarea directă a vaporilor de apă eliminați prin transpirație se poate realiza în atmosferă confinată (închisă) și în atmosferă reînoită. Ambele procedee dau rezultate oarecum aproximative, deoarece în cazul

utilizării atmosferei confinate obiectul de studiu este plasat într-un spațiu în care umiditatea atmosferică și lumina nu sînt identice cu cele din natură, iar în cazul determinărilor efectuate în atmosferă reînoită diferă în plus și viteza curentului de aer față de cea a curenților de aer din mediul natural.

Fig. 1.67. Determinarea transpirației unei frunze în atmosferă confinată:

1 – clopot de sticlă; 2 – frunză; 3 – balon Erlenmeyer umplut cu apă; 4 – strat de ulei; 5 – cristalizor cu $CaCl_2$ anhidră.

1.5.1.2.1.1. Determinarea vaporilor de apă eliminați în atmosferă confinată

Se detașează o frunză de *Tradescantia pendula* sau de la altă specie, secționînd pețiolul ei de la bază, sub nivelul apei aflată într-un vas (pentru a împiedica pătrunderea aerului în vasele de lemn, determinată de existența unui deficit de presiune în ele), după care se introduce repede cu pețiolul în apa dintr-un balon Erlenmeyer mic; se pune peste apa din balon puțin ulei pentru a împiedica evaporarea ei, se așază alături de balon un cristalizor cu o cantitate cunoscută de $CaCl_2$ anhidră[1], cîntărită la balanța analitică împreună cu cristalizorul și se acoperă totul cu un clopot de sticlă (fig. 1.67). După o oră se recîntărește cristalizatorul cu $CaCl_2$. Sporul lui de masă va reprezenta apa transpirată de către frunză și absorbită de deshidratant.

Rezultatele obținute se trec într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 1.22.

Cantitatea de apă transpirată se raportează fie la 1 g substanță proaspătă sau uscată, fie la unitatea de suprafață foliară (care este 1 dm^2) și la unitatea de timp, care este ora.

TABELUL 1.22

Intensitatea transpirației frunzelor de . . . . .

Masa frunzei proaspete (g)	Masa cristalizorului cu $CaCl_2$ uscată (g)	Masa cristalizorului cu $CaCl_2$ umedă (g)	Cantitatea de apă eliminată prin transpirație (g)	Intensitatea transpirației

În cazul cînd intensitatea transpirației se raportează la masa materialului vegetal proaspăt, calculul se face cu ajutorul formulei:

$$\frac{b \cdot 1}{a},$$

în care:

b = cantitatea de apă transpirată (în grame);
a = masa frunzei (în grame);
l = unitatea de masă la care se raportează intensitatea transpirației (= 1 gram).

[1] În cazul cînd $CaCl_2$ nu este bine uscată, se introduce înainte de utilizarea ei la determinare, într-un termostat la temperatura de 100—105°C și după 12 ore se scoate și se răcește într-un exicator în care s-a pus o soluție concentrată de H_2SO_4.

În cazul raportării intensității transpirației la masa materialului vegetal uscat, se procedează la fel, numai că, după efectuarea experimentului, frunza se usucă (după procedeul prezentat în paragraful 1.3.3.6). Se notează masa frunzei uscate în tabelul întocmit și se calculează intensitatea transpirației după formula prezentată anterior, în care *a* va reprezenta masa frunzei uscate (în grame), iar restul termenilor își păstrează semnificația menționată.

În cazul raportării intensității transpirației la unitatea de suprafață, trebuie determinată suprafața frunzei. Un procedeu simplu este următorul: se decupează dintr-o hîrtie de calc (care are o structură foarte uniformă) sau dintr-o foaie de carton cu grosime omogenă, un pătrat cu latura de 10 cm (cu suprafața de 1 dm^2) și se cîntărește la balanța analitică (sau de torsiune); se așază apoi pe el frunza cu care s-a experimentat și se trasează fidel, cu un creion, conturul limbului ei[1]; se decupează apoi „mulajul" frunzei și se cîntărește la aceeași balanță; considerînd că între masa pătratului cu suprafața de 1 dm^2 și masa mulajului există același raport ca între suprafețele lor, se determină suprafața frunzei după relația:

$$S = \frac{b \cdot 1}{a},$$

în care:

S = suprafața frunzei (în dm^2);
a = masa pătratului cu suprafața de 1 dm^2 (în grame);
b = masa mulajului frunzei (în grame);
1 = unitatea de suprafață la care se face raportarea (= 1 dm^2).

Un alt procedeu de determinare a suprafeței foliare constă în planimetrarea contururilor frunzelor, trasate cu creionul pe hîrtie. Planimetrul, mînuit cu atenție pe o suprafață absolut plană (o planșetă de desen) arată direct valoarea suprafeței, procedeul avînd deci un randament sporit.

După determinare, se notează suprafața frunzei în tabelul întocmit (trecînd în locul greutății frunzei suprafața ei în dm^2) și se calculează intensitatea transpirației după relația:

$$\frac{b \cdot 1}{S},$$

în care:

b = cantitatea de apă transpirată (în grame);
S = suprafața frunzei (în dm^2);
1 = unitatea de suprafață la care se face raportarea (= 1 dm^2).

1.5.1.2.1.2. Determinarea vaporilor de apă eliminați în atmosferă reînoită

Într-un tub de sticlă cu rol de incintă, lung de 15 cm și cu diametrul de 6 cm, se introduce o frunză nedetașată de *Tradescantia pendula* sau de la o altă specie, prin intermediul unui dop ce prezintă două orificii: unul (prevăzut și cu tăietură laterală) prin care se trece pețiolul frunzei, iar al doilea străbătut de un tub de sticlă scurt, îngust și îndoit în unghi

[1] În cazul cînd frunza nu se încadrează în pătrat, conturul ei se trasează pe o altă porțiune de hîrtie de aceeași calitate, după care se procedează la echivalarea suprafețelor cu masele respective.

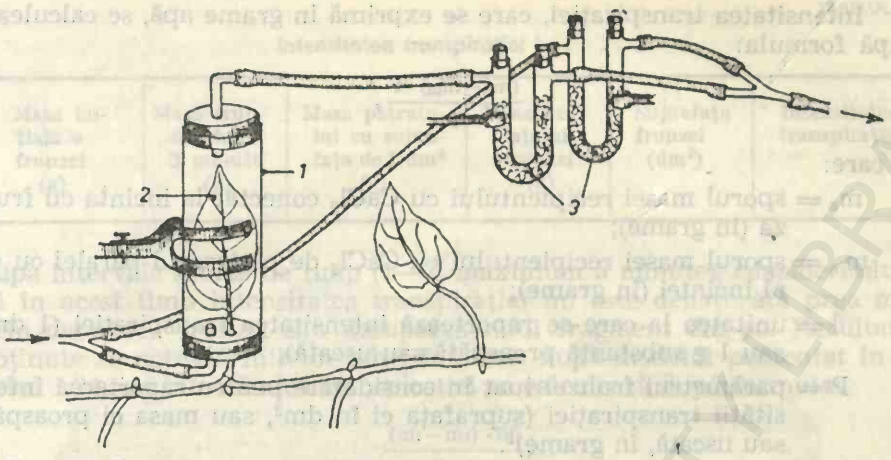


Fig. 1.68. Determinarea intensității transpirației unei frunze în atmosferă reînnoită: 1 – „camera" de transpirație; 2 – frunza de cercetat, nedetașată de plantă; 3 – tuburi umplute cu $CaCl_2$; săgețile indică sensul curentului de aer prin instalație.

drept; capătul celălalt al incintei se astupă cu un dop, prevăzut și el cu un orificiu prin care trece un tub de sticlă asemănător cu cel de la celălalt dop. Tubul de sticlă cu frunza se fixează la un stativ în poziție convenabilă și se pune în legătură, în conformitate cu schema de montaj prezentată în figura 1.68, cu un tub în formă de U (umplut cu $CaCl_2$ anhidră și cîntărit în prealabil) și cu o trompă de apă, care antrenează un curent de aer pe de o parte prin incintă, iar pe de altă printr-un alt tub în formă de U (umplut și el cu $CaCl_2$ anhidră și cîntărit în prealabil). Dînd drumul la trompa de apă (la un jet moderat), se provoacă un curent continuu de aer ce antrenează vaporii de apă din incintă (atît cei eliminați de către frunză cît și cei conținuți în aerul absorbit), care sînt reținuți de către $CaCl_2$ din tubul în U de pe acest traseu; paralel, datorită celor două bifurcații, trece și un curent continuu de aer ce antrenează numai vaporii de apă din atmosferă, care sînt reținuți de $CaCl_2$ din tubul în U aflat pe cel de al doilea traseu. După o oră se recîntăresc recipientele cu $CaCl_2$ și făcînd diferența dintre sporul masei celor două recipiente, se află cantitatea de apă eliminată sub formă de vapori de către frunză, care se raportează fie la unitatea de masă (substanță proaspătă sau uscată), fie la unitatea de suprafață. Datele obținute se trec într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 1.23.

TABELUL 1.23

Intensitatea traspirației frunzelor de . . . . .

Masa inițială a recipientului cu $CaCl_2$ conectat la incintă (g)	Masa finală a recipientului cu $CaCl_2$ conectat la incintă (g)	Masa inițială a recipientului martor cu $CaCl_2$ (g)	Masa finală a recipientului martor cu $CaCl_2$ (g)	Sporul de masă al recipientului conectat la incintă m_f (g)	Sporul de masă al recipientului martor m_m (g)	Suprafața frunzei (dm^2) sau masa ei (g)	Intensitatea transpirației

Intensitatea transpirației, care se exprimă în grame apă, se calculează după formula:

$$\frac{(m_e - m_m) \cdot 1}{P},$$

în care:

m_e = sporul masei recipientului cu $CaCl_2$ conectat la incinta cu frunza (în grame);

m_m = sporul masei recipientului cu $CaCl_2$ de pe traseul paralel cu cel al incintei (în grame);

l = unitatea la care se raportează intensitatea transpirației (1 dm^2, sau 1 g substanță proaspătă sau uscată);

P = parametrul frunzei luat în considerare pentru raportarea intensității transpirației (suprafața ei în dm^2, sau masa ei proaspătă sau uscată, în grame)[1].

1.5.1.2.2. Determinări indirecte

Determinările indirecte se bazează pe măsurarea scăderii masei plantei sau a organului cercetat, ca urmare a pierderii apei prin transpirație, sau pe măsurarea apei absorbite în locul celei eliminate prin transpirație.

1.5.1.2.2.1. Măsurarea scăderii masei materialului vegetal

Pentru determinări se poate recurge la următoarele procedee:

a. *Procedeul cîntăririlor obișnuite.* Cu acest procedeu, care este prezentat în paragraful 1.5.1.1. c, se poate studia influența factorilor externi asupra intensității transpirației unui organ, sau a unei plante întregi: se compară cantitatea de apă pierdută (se preferă utilizarea în experiment a plantei întregi) în condiții de lumină intensă, lumină difuză și întuneric (influența luminii asupra transpirației), la temperatură ridicată și la temperatură mai joasă (influența temperaturii), în atmosferă liniștită și în mișcare prin folosirea unui ventilator (influența curenților de aer), în atmosfera laboratorului și într-o atmosferă confinată obținută prin acoperirea întregului ansamblu cu un clopot de sticlă (influența umidității aerului). Pentru intuirea deosebirilor sînt suficiente datele globale, obținute după expunerea materialului vegetal timp de o oră acestor influențe, fără o raportare a intensității transpirației la unitatea de suprafață sau de masă, întrucît obiectul determinărilor este același.

b. *Procedeul cîntăririlor rapide (procedeul de moment al lui L. A. Ivanov).* La determinări se folosește o balanță de torsiune utilizabilă în condiții de teren. Determinările se efectuează pe frunze detașate sau pe fragmente de frunze, iar pierderile din masă, ca urmare a transpirației, se măsoară prin cîntărirea inițială a materialului vegetal și recîntărirea lui

[1] În cazul cînd raportarea se face la unitatea de suprafață foliară, suprafața frunzei se determină după procedeul prezentat în paragraful 1.5.1.2.1.1, iar în cazul cînd se face la unitatea de substanță uscată, masa frunzei se determină după procedeul descris în paragraful 1.3.3.6.

TABELUL 1.24

Intensitatea transpirației la . . . . .

Masa inițială a frunzei (g)	Masa frunzei după 3 minute (g)	Masa pătratului cu suprafața de 1 dm² (g)	Masa mulajului frunzei (g)	Suprafața frunzei (dm²)	Intensitatea transpirației

după intervale scurte de timp (1—2, maximum 3 minute), considerîndu-se că în acest timp intensitatea transpirației nu este denaturată prea mult prin detașarea frunzei sau decuparea unui fragment din ea. Rezultatele obținute se notează într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 1.24, iar intensitatea transpirației se calculează după formula:

$$\frac{(m_i - m_f) \cdot 60}{P \cdot t},$$

în care:

m_i = masa inițială a frunzei (în grame);
m_f = masa finală (după 1—2 sau 3 minute) a frunzei (în grame);
60 = factor de raportare a intensității transpirației la unitatea de timp (o oră);
P = parametrul frunzei față de care se face raportarea intensității transpirației (masa ei inițială în grame sau suprafața ei în dm²)[1];
t = durata determinării (în minute).

1.5.1.2.2.2. Măsurarea apei absorbite

Pentru măsurarea apei absorbite se folosesc diferite tipuri de potometre. Planta aleasă pentru experiment trebuie să se afle în echilibru hidric (să nu fie ofilită), iar cantitatea de apă fixată în țesuturile ei pe cale de creștere să fie neglijabilă. În cazul cînd se folosesc plante întregi, acestea trebuie să provină din culturi hidroponice, deoarece sistemul lor radicular nu prezintă leziuni. Cînd se folosesc organe izolate, acestea trebuie secționate sub apă, iar măsurătorile pentru determinarea intensității transpirației trebuie să înceapă după circa 12 ore de la montarea lor în potometru. Modul de lucru cu potometrul este prezentat în paragraful 1.3.1 a.

1.5.1.2.2.3. Determinarea mersului diurn al transpirației

Intensitatea transpirației variază în decursul a 24 de ore, descriind o curbă caracteristică. Această curbă se poate pune în evidență cu ajutorul unei balanțe înregistratoare, pe care se așază, făcîndu-se echilibrul, o plantă cultivată într-un vas de vegetație smălțuit, avînd suprafața solului acoperită cu hemidiscuri de asemenea smălțuite (fig. 1.69). La unul din brațele balanței este fixat un ac înregistrator, care înscrie variațiile

[1] În cazul cînd raportarea se face la unitatea de suprafață foliară, suprafața frunzei se determină după procedeul descris în paragraful 1.5.1.2.1.1.

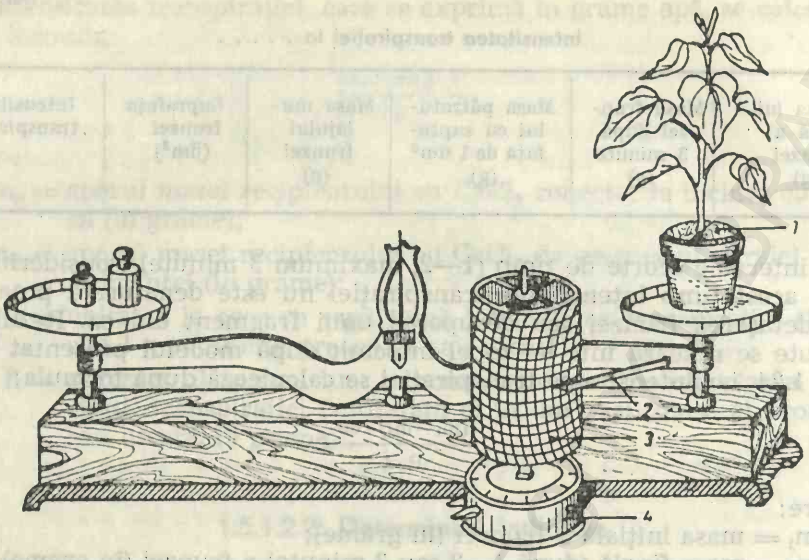


Fig. 1.69. Înregistrarea variațiilor diurne al transpirației:
1 – semidiscuri din lemn sau material plastic, pentru împiedicarea evaporației; 2 – ac înregistrator, solidar cu brațul balanței; 3 – cilindru înregistrator; 4 – ceasornic.

diurne ale intensității transpirației pe o hîrtie specială fixată pe un cilindru, ce se rotește încet datorită unui mecanism de ceasornic. Înregistrînd mersul diurn al intensității transpirației se obține o curbă în formă de S. Dacă se măsoară pe hîrtia înregistratoare diferențele existente între intensitatea transpirației din oră în oră și se reprezintă valorile obținute pe un grafic (notînd pe ordonată intensitatea transpirației, iar pe abscisă timpul în ore) se obține o curbă foarte asemănătoare cu cea a factorilor externi (intensitatea luminii, temperatura) care influențează transpirația. Din analiza acestei curbe rezultă constatarea că transpirația este redusă în intensitate dimineața devreme (la orele 6) și crește progresiv pînă la amiază, sau pînă la orele 13—14, cînd atinge valoarea maximă, după care scade, mai repede decît a crescut, pînă către orele 18 cînd devine din nou foarte slabă[1]. În continuare, în cursul nopții, continuă să scadă încet, atingînd valoarea minimă în dimineața zilei următoare, în jurul orei 6.

1.5.1.3. Căile de emisiune a apei

Plantele inferioare, ca și plantele nevasculare, elimină vaporii de apă la suprafața tuturor celulelor lor care vin în contact cu atmosfera. Trans-

[1] Acest mers al curbei are loc în zilele de vară, senine, liniștite și potrivit de calde. Curba tip suferă însă numeroase modificări, după specie și după variațiile factorilor mediului extern. Această curbă tip se poate obține mai ales în laborator, unde factorii influenți sînt relativ constanți în variațiile pe care le prezintă în cursul zilei.

piraţia lor este mai mult sau mai puţin intensă, în funcţie de starea fizico-chimică a celulelor. După oscilaţiile conţinutului lor în apă aceste plante sînt poikilohidrice.

La plantele vasculare, care sînt homeohidrice, transpiraţia se desfăşoară în trei etape:

— prima constă în evaporarea apei la suprafaţa tuturor celulelor aflate în contact cu atmosfera internă din meaturi;

— a doua este reprezentată de difuziunea vaporilor de apă prin spaţiile intercelulare, spre suprafaţa organelor aflate în contact direct cu atmosfera;

— a treia constă în eliminarea vaporilor de apă, prin difuzie, din atmosfera internă în mediul înconjurător.

Eliminarea vaporilor de apă are loc mai ales prin ostiolele stomatelor şi în mod accesoriu prin traversarea cuticulei; o mică parte a vaporilor de apă este eliminată şi pe la nivelul lenticelelor.

1.5.1.3.1. Transpiraţia prin stomate

Stomatele se găsesc pe epidermele frunzelor şi ale tulpinilor nesuberificate. Ele sînt repartizate mai ales pe faţa inferioară (dorsală) la frunzele care stau în poziţie orizontală (frunze hipostomatice), iar la frunzele cu port, mai mult sau mai puţin, vertical se găsesc pe ambele feţe ale acestora (frunze amfistomatice). În cazuri mai rare stomatele se găsesc numai pe faţa superioară a frunzelor: este cazul frunzelor natante de la plantele acvatice, care sînt epistomatice.

Transpiraţia prin stomate reprezintă, în medie, 90% din transpiraţia totală a plantelor.

1.5.1.3.1.1. Evidenţierea şi determinarea transpiraţiei stomatice

Transpiraţia intensă, care are loc la nivelul stomatelor, poate fi evidenţiată prin experimente simple, cu condiţia să se lucreze la lumină şi cu frunze bine hidratate, ca să aibă stomatele larg deschise.

a. Se aplică, pe feţele unei frunze nedetaşate, hîrtii simpatice, conform procedeului prezentat în paragraful 1.5.1.1. b, şi după începutul virării culorii lor, se examinează la microscop hîrtiile la o mărire puternică. Se va constata prezenţa a numeroase punctişoare roz pe suprafaţa lor, fiecare dintre ele corespunzînd unei ostiole prin care au difuzat vaporii de apă ce au hidratat $CoCl_2$, modificîndu-i culoarea. La frunzele hipostomatice numărul punctişoarelor roz este mai mare pe faţa inferioară. Din acest experiment rezultă constatarea că transpiraţia are loc mai ales prin stomate.

b. *Procedeul Garreau.* Acest procedeu permite să se compare transpiraţia de pe faţa superioară cu cea de pe faţa inferioară a unei frunze. Pentru determinare se folosesc două clopote de sticlă, de aceeaşi mărime, prevăzute cu dopuri de plută la partea lor superioară şi cu marginile bine şlefuite. Aceste dopuri se lipesc cu vaselină, bază la bază, pe faţa superioară şi inferioară a unei frunze nedetaşate, după care se fixează în poziţie convenabilă la un stativ (fig. 1.70). Fiecare clopot conţine cîte un recipient cu $CaCl_2$ anhidră, cîntărit în prealabil la balanţa analitică şi fixat după aceea la dopul clopotelor. După o oră se cîntăresc din nou re-

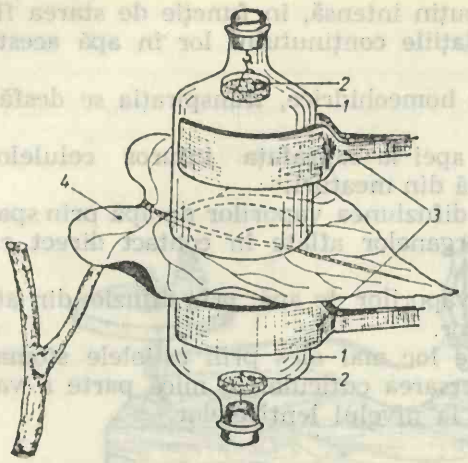


Fig. 1.70. Determinarea transpirației stomatice prin procedeul Garreau:

1 – clopote de sticlă; 2 – recipiente cu $CaCl_2$; 3 – clemele care susțin clopotele fixate la stativ; 4 – frunza de cercetat, nedetașată de plantă.

cipientele cu $CaCl_2$ și făcînd diferența dintre prima și a doua cîntărire, se află cantitatea de apă transpirată prin cele două fețe ale frunzei și absorbită de $CaCl_2$.

Pentru a se demonstra și mai bine rolul stomatelor în transpirație, trebuie să se lucreze în paralel și cu o frunză lipsită de stomate pe fața superioară (frunză de iederă sau de *Peperonia*) și cu o frunză amfistomatică *(Tradescantia pendula)*, cărora li se determină apoi și numărul de stomate pe mm^2, după procedeul prezentat în paragraful 1.5.1.3.1.2.

Intensitatea transpirației se exprimă în g apă/dm^2/h. Pentru aceasta se determină suprafața frunzei aflată sub clopot, aplicînd formula prin care se află suprafața cercului (πr^2). Datele experimentului se notează într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 1.25. Pentru calcularea intensității transpirației se aplică relația:

$$\frac{b \cdot 1}{S},$$

TABELUL 1.25

Evidențierea particularităților transpirației stomatice la plantele cu frunze hipostomatice și amfistomatice

Specia	Fața frunzei	Suprafața de frunză analizată S (dm^2)	Numărul de stomate pe mm^2	Masa recipientului cu $CaCl_2$ uscată (g)	Masa recipientului cu $CaCl_2$ umedă (g)	Diferența de masă a recipientului cu $CaCl_2$ (g)	Intensitatea transpirației (g apă/ dm^2/h)
Hedera helix	superioară						
	inferioară						
Tradescantia pendula	superioară						
	inderioară						

în care:

b = cantitatea de vapori de apă reținuți de recipientul cu $CaCl_2$ (în grame);

S = suprafața frunzei aflată sub clopot (în dm^2)[1];

1 = unitatea de suprafață foliară la care se face raportarea (1 dm^2).

1.5.1.3.1.2. Numărarea stomatelor de pe frunze

Numărul de stomate pe unitatea de suprafață foliară este foarte variabil. Ele sînt mai numeroase la frunzele crescute în medii însorite decît la frunzele crescute în umbră și în atmosferă umedă. În medie, numărul de stomate este de 10 000 pe cm^2, dar variațiile sînt foarte mari: între 1 000—2 000/cm^2 la graminee și peste 1 000 000/cm^2 la *Qercus coccinea*. Cu tot numărul lor mare, aceste orificii sînt atît de mici încît suprafața ostiolelor stomatelor larg deschise nu reprezintă decît 1—2% din suprafața foliară.

Numărarea stomatelor se face cu ajutorul microscopului, folosind obiectivul cu mărire mijlocie (40 x), la care trebuie să i se determine suprafața cîmpului. În acest scop se folosește un micrometru obiectiv. Acesta este o lamă de sticlă în mijlocul căreia este gravată o scară milimetrică cu lungimea de 1 mm, împărțită în 100 de părți; deci o diviziune corespunde la 1/100 mm, adică are 10 μ. Se așază micrometrul obiectiv pe platina microscopului și se aduce gradația 0 la marginea stîngă a cîmpului microscopic, după care se numără diviziunile corespunzătoare dia-

TABELUL 1.26

Numărul stomatelor de pe o frunză de Peperonia (exemplificare)

Sectorul analizat	Zona de la vîrful limbului			Zona de pe laturile limbului					
				Latura stîngă			Latura dreaptă		
Cîmpuri ale obiectivului	Stomate întregi	Jumătăți de stomate	Sferturi de stomate	Stomate întregi	Jumătăți de stomate	Sferturi de stomate	Stomate întregi	Jumătăți de stomate	Sferturi de stomate
I	2	—	1	3	—	—	2	1	—
II	2	1	—	1	2	1	2	1	1
III	3	1	1	3	—	2	1	1	1
Total stomate întregi	7	1	0,5	7	1	0,75	5	1,5	0,5
Media	2,83			2,91			2,33		

$$\text{Media stomatelor pe un cîmp} = \frac{2{,}83+2{,}91+2{,}33}{3} = 2{,}69$$

[1] Suprafața frunzei se determină după procedeul prezentat în paragraful 1.5.1.2.1.1.

metrului cîmpului. Aplicînd formula după care se determină suprafața cercului (πr^2) se află suprafața cîmpului obiectivului. Cunoscînd suprafața cîmpului obiectivului (calculată în cm^2), se trece la numărarea stomatelor care intră în el. Numărarea se face pe porțiuni de epidermă inferioară, obținute prin jupuirea cu o lamă sau un brici, de la frunze de *Peperonia*, cireș, dud, piersic etc., luate din zona vîrfului și laturilor frunzei, care se montează pe rînd, între lamă și lamelă, într-o picătură de apă. Se numără stomatele întregi, jumătățile și eventual sferturile de stomate cuprinse în cîmpul obiectivului și rezultatele se trec ca atare într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 1.26. Se execută trei asemenea citiri pentru fiecare fragment de epidermă, mutîndu-se de fiecare dată cîmpul obiectivului într-o altă zonă de pe suprafața preparatului. Se face apoi media numărului de stomate pentru fiecare fragment de epidermă, transformînd jumătățile și sferturile de stomate în stomate întregi, după care se face media generală pentru toate cele trei fragmente. Se trece apoi la calcularea numărului mediu de stomate existente pe 1 mm^2 de suprafață foliară (sau pe 1 cm^2), folosind în calcul valoarea obținută pentru suprafața cîmpului obiectivului. În continuare se determină suprafața frunzei (după procedeul prezentat în paragraful 1.5.1.2.1.1.) și printr-o regulă de trei simplă se află numărul total de stomate de pe frunză

1.5.1.3.1.3. Determinarea gradului de deschidere a stomatelor

Nu există o proporționalitate exactă între lărgimea ostiolelor și intensitatea transpirației. Variațiile gradului de deschidere a stomatelor în vecinătatea diametrului maxim al ostiolei sînt adesea fără influență asupra intensității transpirației stomatice. Întrucît stomatele nu reprezintă locul de evaporare a apei ci locul de difuzie a vaporilor de apă, reglarea stomatică a intensității transpirației nu apare, în general, decît de la un anumit grad de deschidere a ostiolei. Pentru o anumită densitate a stomatelor, pe măsură ce diametrul ostiolelor crește, se ajunge la un moment cînd deschiderea lor este suficientă pentru ca pierderea apei să aibă loc ca și cînd epiderma nici nu ar exista, iar cele două atmosfere (internă și externă) ar veni direct în contact. Dincolo de mărimea acestei deschideri, orice creștere a diametrului ostiolei nu mai are nici un efect asupra intensității transpirației, astfel că reglarea stomatică a transpirației nu mai are loc.

Există mai multe procedee pentru determinarea gradului de deschidere a stomatelor:

a. *Fixarea rapidă în alcool sau în parafină (procedeul Lloyd).* Fixarea rapidă a materialului imobilizează definitiv stomatele, așa cum se află la momentul respectiv. Se jupuiește o porțiune din epiderma inferioară a unei frunze (*Tradescantia, Pelargonium* etc.) și se trece rapid în alcool absolut sau în parafină fierbinte. Observațiile se pot face imediat după fixare, montînd materialul vegetal într-o picătură de soluție fenolică de apă iodată (reactivul nr. 38) luată pe o lamă de microscopie, sau materialul poate fi păstrat pentru observații ulterioare. Cu ajutorul unui micrometru ocular fixat la microscop, se măsoară, în microni, deschiderea ostiolelor. Procedeul prezintă dezavantajul că jupuirea epidermelor înlătură tensiunea existentă între epidermă și mezofil, ceea ce modifică în oarecare măsură gradul de deschidere a stomatelor.

b. *Procedeul mulajelor.* Acest procedeu prezină avantajul că se evită jupuirea epidermei. Pentru determinare se aplică pe suprafața unei frunze nedetașate un strat subțire de colodiu (reactivul nr. 19) cu ajutorul unei baghete și după uscarea lui, care se petrece repede, se detașează de pe frunză cu ajutorul unei pense. Mulajul obținut se montează între lamă și lamelă într-o picătură de apă și examinîndu-l la microscop, se măsoară cu ajutorul micrometrului ocular deschiderea ostiolelor bine imprimate. Acest procedeu prezintă dezavantajul că nu poate fi folosit în cazul frunzelor care au peri epidermici.

c. *Procedeul infiltrației.* Lichidele lipofile, așezate sub formă de picături pe o frunză, se pot infiltra sau nu prin ostiolele stomatelor, funcție de tensiunea lor superficială și de gradul de deschidere a stomatelor. Cu cît lichidul utilizat are o tensiune superficială mai mică, cu atît pătrunde mai ușor prin ostiole. Se stabilește o scară de lichide cu tensiunea superficială crescînd progresiv, se colorează (de pildă cu violet de gențiana) și apoi se așază cîte o picătură din ele pe suprafața epidermei, în locuri diferite. Gradul de penetrație este indicat de intensitatea colorației în locul de infiltrație. Dacă pătrunde numai lichidul cu tensiunea superficială cea mai slabă, înseamnă că stomatele sînt puțin deschise; dacă pătrund toate lichidele, stomatele sînt larg deschise.

Gradul de deschidere a stomatelor se mai poate aprecia și după viteza de pătrundere a unui lichid sau a altuia (tehnica lui Molisch și Schorn). În cazul cînd stomatele sînt larg deschise, lichidul pătrunde repede, înlocuiește aerul din mezofil și porțiunea respectivă din frunză devine translucidă. În testare se folosesc, de obicei, următoarele lichide: eter de petrol, eter etilic, alcool absolut, xilen, benzen, ulei de parafină. Timpul necesar infiltrației se măsoară cu cronometrul și, pentru obținerea unor date comparabile, este obligator să se folosească același lichid. Procedeul oferă o imagine relativă asupra gradului de deschidere a stomatelor, permițînd posibilitatea efectuării unor comparații între diferite plante în cîmp. Datele obținute se notează într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 1.27.

TABELUL 1.27

Determinarea gradului de deschidere a stomatelor

Specia	Lichidele utilizate și timpii de infiltrație (în minute și secunde)				
	Eter de petrol	Eter etilic	Xilen	Alcool absolut	Ulei de parafină

1.5.1.3.2. Transpirația prin cuticulă

Cuticula reprezintă o barieră în calea pierderilor de apă, deoarece este bogată în substanțe hidrofobe, provenite din oxidarea acizilor grași, încît este puțin permeabilă pentru apă. Permeabilitatea ei variază considerabil cu vîrsta organului și cu grosimea (care este de 1—15μ, în general). Cuticula poate prezenta însă unele perforații (la nivelul plasmodes-

TABELUL 1.28

Transpirația prin cuticulă și prin stomate

Specia	Fața limbului frunzei	Numărul stomatelor/mm²	Intensitatea transpirației (g apă/dm²/h)
Tilia cordata	superioară		
	inferioară		
Phragmites australis	superioară		
	inferioară		

melor, sau crăpături) inframicroscopice, sau zone mai puțin hidrofobe, pe unde pot difuza vaporii de apă. De asemenea, poate avea loc o transpirație ușoară și la nivelul unei cuticule subțiri.

Transpirația prin cuticulă se poate pune în evidență prin procedeul Garreau (v. paragraful 1.5.1.3.1.1 b), folosind frunze de tei sau de trestie, a căror față superioară este lipsită de stomate și acoperită cu un strat subțire de cuticulă. Intensitatea ei se exprimă în g apă/dm²/h. După determinarea intensității transpirației cuticulare se va determina și numărul de stomate de pe fața superioară a frunzelor, conform procedeului prezentat în paragraful 1.5.1.3.1.2. Datele obținute se trec într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 1.28.

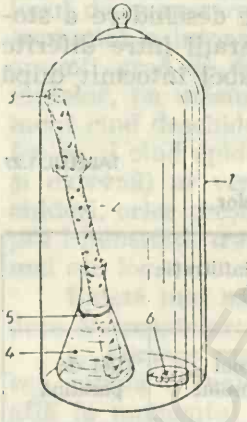


Fig. 1.71. Evidențierea transpirației prin lenticele:
1 – clopot de sticlă; 2 – segment de ramură de soc; 3 – ceară; 4 – balon Erlenmeyer umplut cu apă; 5 – strat de ulei; 6 – recipient cu $CaCl_2$ anhidră.

1.5.1.3.3. Transpirația prin lenticele

Lenticelele corespund unei lipse de coeziune între celulele suberificate sau unei absențe a suberificării. Ele reprezintă circa 2% din suprafața suberificată. Transpirația ramurilor și trunchiurilor este totdeauna foarte redusă în raport cu cea a frunzelor, reprezentînd doar a mia parte pentru o suprafață egală.

Transpirația prin lenticele se poate pune în evidență ușor la o ramură de soc. Se ceruiește sau se parafinează partea superioară a unui segment de ramură și se taie apoi extremitatea lui inferioară sub apă. Segmentul astfel obținut se trece într-un balon Erlenmeyer mic, cu apă, peste care se adaugă un strat de ulei pentru a împiedica evaporarea apei. Se așază alături un recipient cu $CaCl_2$ anhidră, cîntărit la balanța analitică și apoi se acoperă totul etanș cu un clopot de sticlă (fig. 1.71). După 24 de ore se recîntărește recipientul cu $CaCl_2$ și se află,

prin diferența dintre cele două cîntăriri, cîtă apă a eliminat ramura prin transpirație la nivelul lenticelor, în acest interval de timp.

1.5.2. GUTAȚIA

Prin gutație se înțelege eliminarea apei de către plante sub formă de picături, într-o atmosferă încărcată cu vapori de apă. Gutația are loc cînd transpirația este redusă sau nulă, în timp ce absorbția radiculară a apei este intensă. Gutația suplinește transpirația, permițînd urcarea sevei brute în vasele conducătoare. Ea corespunde unei suprapresiuni a apei în plantă, intervenind ca o „supapă de siguranță" care limitează turgescența țesuturilor, fără ca să se întrerupă absorbția apei. Eliminarea apei are loc prin hidatode sau stomate acvifere, în preajma cărora se află terminațiile vaselor lemnoase.

1.5.2.1. Gutația naturală

Este un fenomen răspîndit în natură, fiind evidențiat la peste 300 de genuri de plante. Gutația este foarte intensă la plantele ecuatoriale și tropicale de pădure. În regiunile noastre gutația este redusă și are loc mai ales în timpul nopților umede de vară.

Gutația se evidențiază ușor, udînd bine solul dintr-un ghiveci în care cresc plante tinere (de 8—10 zile) de orz, grîu sau porumb, după care se acoperă etanș ghiveciul cu un clopot, sub care se pune și un cristalizor cu apă, pentru a realiza o atmosferă internă bogată în vapori de apă. Ținînd ansamblul într-un loc întunecos și călduros, se constată, după cîteva ore, apariția în vîrful fiecărei frunzulițe a unei picături de apă, care, mărindu-se, lunecă în lungul frunzei, în locul ei apărînd alta (fig. 1.72). Spre deosebire de apa de rouă, apa gutată conține diferite substanțe dizolvate în ea, în special săruri minerale. Dacă se evaporă cîteva picături de apă de gutație, luate pe o lamă de microscopie, se obține un rezidiu albicios.

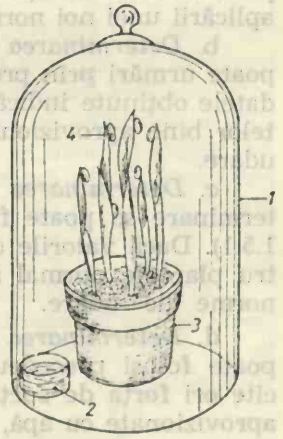


Fig. 1.72. Evidențierea gutației naturale:
1 – clopot de sticlă; 2 – cristalizor cu apă; 3 – ghiveci cu plantule; 4 – picături de apă eliminată prin gutație.

1.5.2.2. Gutația artificială

Gutația își are originea în presiunea radiculară, prin care celulele parenchimatoase din vecinătatea vaselor secretă apa activ în xilem. Ca rezultat, presiunea hidrostatică crește în vase și determină excreția apei prin hidatode.

Folosind greutatea unei coloane de mercur, se determină o împingere a apei în vasele unei ramuri detașate, silind eliminarea apei sub formă de picături, similar cu forța exercitată de presiunea radiculară. Pentru provocarea gutației se in-

troduce în brațul mai scurt al unui tub de sticlă în formă de U, prin intermediul unui dop de cauciuc perforat și cu tăietură laterală, o ramură detașată de *Fuchsia* și, dacă este cazul, se parafinează dopul pentru etanșarea fixării. Se toarnă apoi în tub puțină apă de conductă și apoi mercur și se așază lîngă tub un cristalizor cu apă, pentru a mări umiditatea aerului de sub clopotul cu care se acoperă ansamblul (fig. 1.73). După cîteva ore se constată apariția picăturilor de apă la vîrful dințișorilor frunzelor.

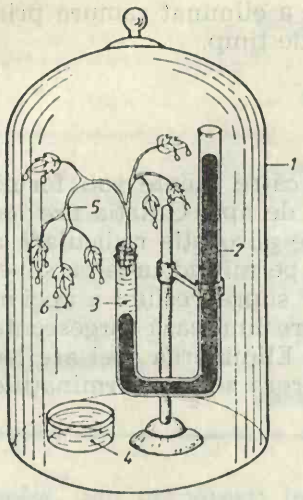


Fig. 1.73. Gutația provocată artificial:
1 – clopot de sticlă; 2 – coloană de mercur; 3 – apă; 4 – cristalizor cu apă; 5 – ramură de *Fuchsia*; 6 – picături de apă eliminată prin gutație.

1.6. PROCEDEE UTILIZATE PENTRU CONTROLUL STĂRII DE APROVIZIONARE CU APĂ A PLANTELOR DE CULTURĂ

Cunoașterea cerințelor de apă ale plantelor de cultură, în condiții de irigare, în vederea stabilirii momentului optim de aplicare a normelor de udare, se poate stabili printr-o serie de indici fiziologici. Dintre acești indici cel mai ușor de utilizat sînt următorii:

a. *Determinarea gradului de deschidere a stomatelor.* Pentru determinări se poate folosi procedeul infiltrației (v. paragraful 1.5.1.3.1.3 c). Ori de cîte ori gradul de deschidere a stomatelor va fi mai mic decît la plantele normal aprovizionate cu apă, constatarea indică necesitatea aplicării unei noi norme de udare.

b. *Determinarea intensității transpirației.* Intensitatea transpirației se poate urmări prin procedeul Stahl (v. paragraful 1.5.1.1. b). În cazul cînd datele obținute indică o transpirație redusă în comparație cu cea a plantelor bine aprovizionate cu apă, se impune aplicarea unei noi norme de udare.

c. *Determinarea concentrației sucului stors din frunze.* Pentru determinare se poate folosi procedeul refractometric (v. paragraful 1.2.3.-1.5.1). Dacă valorile obținute sînt mai mari decît cele caracteristice pentru plantele normal aprovizionate cu apă, se impune aplicarea unei noi norme de udare.

d. *Determinarea forței de sucțiune a frunzelor.* La determinare se poate folosi procedeul refractometric (v. paragraful 1.2.3.1.6 c). Ori de cîte ori forța de sucțiune va depăși valorile caracteristice plantelor bine aprovizionate cu apă, acest lucru reprezintă un indiciu al necesității aplicării unei norme de udare.

e. *Determinarea presiunii radiculare.* Instalarea unor valori negative ale presiunii radiculare reprezintă un indiciu al necesității aplicării unei noi norme de udare. Instalarea valorilor negative ale presiunii radiculare se constată prin absorbția unei picături de apă depusă pe suprafața de secțiune a ciotului tulpinii, imediat după secționare.

Determinările specificate la punctele *a* și *b* trebuie efectuate totdeauna la aceeași oră (dimineața devreme) și pe frunze situate la aceeași înălțime de inserție pe tulpina plantelor. De asemenea, controlul gradului de aprovizionare cu apă a plantelor din culturile irigate impune ca materialul vegetal utilizat pentru determinările specificate la punctele *c* și *d* să fie reprezentat prin frunze recoltate la aceeași oră, dimineața devreme, de la aceeași înălțime de inserție pe tulpină (de la același etaj) și de la un număr mai mare de plante, pentru a se putea obține valori medii, conforme situației reale. Dacă se utilizează ca indice presiunea radiculară, aceasta trebuie determinată tot dimineața devreme, totdeauna la aceeași oră, deoarece atît presiunea radiculară, cît și ceilalți indici fiziologici utilizați pentru controlul gradului de aprovizionare cu apă a plantelor din culturile irigate, prezintă variații mari în cursul zilei.

Normele de udare trebuie aplicate imediat după constatarea înrăutățirii stării de aprovizionare cu apă a plantelor, deoarece dacă plantele încep să se ofilească, chiar dacă își revin după udare, se înregistrează inevitabil scăderi ale recoltei.

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY

2

NUTRIȚIA MINERALĂ A PLANTELOR

Cunoașterea relațiilor complexe care se stabilesc între plante și sol prezintă un interes deosebit atît pentru elucidarea mecanismelor absorbției substanțelor nutritive, cît și pentru rezolvarea unor probleme cu caracter aplicativ privind fertilizarea culturilor.

Pentru dirijarea nutriției minerale a plantelor se impune cunoașterea detaliată a însușirilor solului, a posibilităților de nutriție pe care le oferă, precum și cunoașterea particularităților plantelor și a modului lor de interacțiune cu solul.

2.1. COMPOZIȚIA CHIMICĂ A PLANTELOR

Cunoașterea compoziției în elemente chimice a organismelor vegetale a reprezentat prima direcție de cercetare în domeniul nutriției minerale a plantelor, deoarece datele obținute urmau să servească drept bază pentru stabilirea elementelor care sînt absorbite de către plante din mediul extern, a celor care le sînt absolut necesare dintre aceste elemente și a rolului lor în viața plantelor.

2.1.1. STUDIUL CENUȘII

Cenușa, sau reziduul mineral rezultat după calcinarea substanței vegetale, prezintă o compoziție complexă. Conținutul plantelor în cenușă este variabil cu specia, vîrsta plantelor, organele supuse analizei, condițiile de mediu în care au crescut plantele. Un conținut mare de cenușă au leguminoasele și buruienile. Frunzele plantelor conțin pînă la 50% săruri minerale din substanța uscată. Rădăcinile sînt mai sărace în substanțe minerale decît organele supraterane; ele conțin între 2—15% săruri minerale din substanța uscată. Semințele conțin între 1—8% săruri minerale din substanța uscată.

Analiza chimică a cenușii plantelor evidențiază prezența în ele a peste 60 de elemente chimice, care au fost clasificate, după cantitatea în care se găsesc în cenușă, în macroelemente, microelemente și ultramicroelemente.

2.1.1.1. Determinarea cantității de cenușă

Pentru determinarea cantității de cenușă din corpul plantelor se folosesc două procedee: incinerarea simplă și incinerarea cu adaos de acid azotic sau de apă oxigenată.

2.1.1.1.1. Incinerarea simplă

Principiul procedeului. Materialul vegetal este supus distrucției pe cale uscată sub acțiunea temperaturii, la început la 200—400°C și în continuare la 600°C. Temperatura prea ridicată poate provoca pierderi în unele elemente (fosfor, sulf și clor), ca urmare a acțiunii reducătoare a carbonului. Operația trebuie să se desfășoare în două etape: prima, la care temperatura să nu depășească 400°C, timp de 25—30 de minute și a doua la 600°C, timp de 1—2 ore, pînă se obține o cenușă albă.

Modul de lucru. Se ia un creuzet de porțelan cu capac, care în prealabil a fost spălat și uscat. Se calcinează apoi creuzetul într-un cuptor electric (fig. 2.1) la 600°C, timp de o oră, după care se răcește într-un exicator și se cîntărește. Se repetă apoi calcinarea și cîntărirea pînă ce creuzetul ajunge la masă constantă, situație în care diferența dintre ultimele două cîntăriri este mai mică de 0,0001 g.

În creuzetul adus la masă constantă se cîntăresc la balanța analitică 2—5±0,001 g din materialul vegetal de analizat, adus în prealabil la stadiul de substanță uscată la temperatura de 100—105°C[1]. Se așază apoi creuzetul, închis cu capacul, pe un triunghi de șamotă și se încălzește la flacăra albăstruie a unui bec de gaz. Flacăra nu trebuie să atingă fundul creuzetului, ci trebuie să fie la o distanță de 3—4 cm. Se urmărește mersul incinerării, în cursul căreia culoarea creuzetului trece de la roșu deschis la roșu închis. Încinerarea trebuie făcută lent pentru a se evita distilarea uscată violentă, deoarece în acest caz este posibilă împrăștierea de particule de substanțe din probă, împreună cu gazele ce se degajă. După aproximativ 10 minute de incinerare, se deschide capacul creuze-

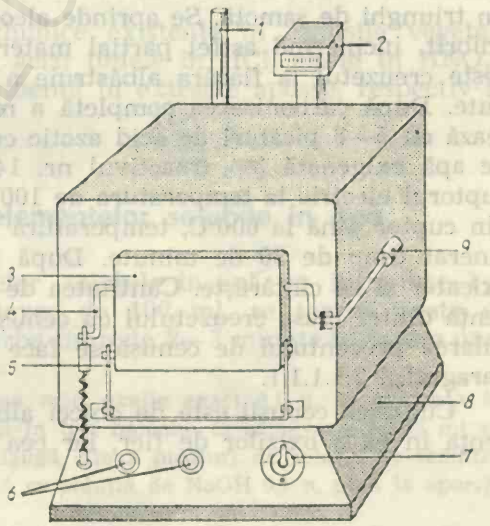


Fig. 2.1. Cuptor electric:
1 — mufă (coș); 2 — dispozitiv pentru fixarea temperaturii de lucru; 3 — ușă; 4 — brațul care acționează ușa; 5 — balama; 6 — becuri de avertizare asupra funcționării cuptorului; 7 — comutator; 8 — suport metalic; 9 — mînerul ușii.

[1] Uscarea se face conform procedeului descris pentru sol (v. paragraful 1.3.3.6). Acest procedeu nu afectează determinarea cantității de cenușă (și nici evidențierea elementelor chimice prezente în ea), deoarece nu duce la pierderi din elementele sale constitutive.

tului pe jumătate, iar creuzetul se așază înclinat, pentru a înlesni accesul aerului. După obținerea cenușii (în decurs de 30 de minute de incinerare), se trece creuzetul în cuptorul electric pentru calcinarea completă, proces care are loc la temperatura de 550—600°C, în timp de 1—2 ore. Incinerarea se continuă pînă se obține o cenușă de culoare deschisă, cu structură poroasă. După obținerea cenușii se trece creuzetul într-un exicator pentru răcire (timp de 15 minute) și apoi se cîntărește la balanța analitică. Conținutul de cenușă se exprimă în procente, raportînd masa ei la masa substanței uscate, cu ajutorul relației:

$$\frac{A}{D} \cdot 100,$$

în care:

A=masa cenușii rezultate (în grame);

D=masa substanței uscate luată la analiză (în grame);

100=factor pentru raportarea rezultatului în procente.

2.1.1.1.2. Incinerarea cu adaos de acid azotic sau de apă oxigenată

Principiul procedeului constă în distrucția oxidativă a materiei organice vegetale.

Modul de lucru. Pregătirea creuzetului pentru determinare se face conform protocolului descris în paragraful 2.1.1.1.1. În creuzetul adus la masă constantă se cîntăresc la balanța analitică 2—5±0,001 g material vegetal, adus la starea de substanță uscată la 100—105°C. Se toarnă apoi peste el 2—3 ml de alcool etilic de 96% și se așază creuzetul sub nișă pe un triunghi de șamotă. Se aprinde alcoolul din creuzet de la flacăra unui chibrit, incinerînd astfel parțial materialul vegetal, după care se încălzește creuzetul la flacăra albăstruie a unui bec de gaz timp de 30 minute. După carbonizarea completă a materialului vegetal, acesta se tratează cu 5—8 picături de acid azotic concentrat, sau cu aceeași cantitate de apă oxigenată 3% (reactivul nr. 14). Se introduce apoi creuzetul în cuptorul electric la temperatura de 100°C și se ridică treptat temperatura din cuptor pînă la 600°C, temperatură la care materialul vegetal este incinerat timp de 30 de minute. După incinerare se răcește creuzetul în exicator și se cîntărește. Cantitatea de cenușă rezultată se află din diferența dintre masa creuzetului cu cenușă și masa creuzetului gol, iar calcularea procentului de cenușă se face cu ajutorul relației prezentate în paragraful 2.1.1.1.1.

Culoarea cenușii este de obicei albă. Cenușa roșie-brună indică prezența în ea a oxizilor de fier, iar cea verde prezența manganului.

2.1.1.2. Alcalinitatea cenușii

Elementele bazice se găsesc în plante fie sub formă de săruri ale acizilor minerali (cloruri, fosfați, sulfați etc.), fie sub formă de săruri ce hidrolizează bazic, ale acizilor organici (citrați, malați, oxalați, tartrați

etc.). Aceste săruri se transformă prin incinerare în carbonați. Datorită prezenței carbonaților și fosfaților ce hidrolizează bazic, cenușa are un caracter alcalin, titrabil, care este cu atît mai pronunțat cu cît este mai bogată în carbonați.

Modul de lucru. Într-un balon Erlenmeyer de 250 ml se introduc 0,5—1 g de cenușă, care a fost cîntărită într-un tubușor de sticlă tarat în prealabil. Se adaugă peste ea 100 ml HCl 0,1 n dintr-o biuretă și 2—3 picături de apă oxigenată 30%. Se încălzește balonul 10 minute pe o baie de apă care fierbe și după răcire se filtrează conținutul lui, spălînd de 2—3 ori atît balonul cît și hîrtia de filtru. În filtrat se adaugă 1—2 picături de indicator, metil oranj 0,1% (care în mediu acid dă o culoare roșie) și se titrează cu o soluție de NaOH 0,1 n excesul de acid pînă la apariția culorii portocalii. Determinarea se repetă de două ori și se face media valorilor obținute la titrare.

Alcalinitatea cenușii se calculează cu ajutorul formulei:

$$\frac{V \cdot F}{m_c},$$

în care:

V =volumul soluției de NaOH folosit la titrare (media celor două determinări, în ml);

F =factorul soluției de NaOH 0,1 n[1];

m_c =masa cenușii luată pentru determinare (în grame).

Rezultatul obținut este exprimat în ml NaOH la 1 gram de cenușă.

2.1.2. EVIDENȚIEREA ELEMENTELOR CHIMICE DIN CENUȘĂ

O parte dintre elementele chimice existente în cenușile vegetale sînt solubile în apă, iar altele în acizi (unele în HCl, altele în HNO_3), fapt ce permite punerea lor în evidență în extracte apoase, respectiv în extracte acide.

2.1.2.1. Evidențierea elementelor solubile în apă

Pentru evidențierea elementelor solubile în apă se introduce 1 g de cenușă într-un balon Erlenmeyer de 100 ml, se toarnă peste ea 25—30 ml de apă distilată și se fierbe timp de 2—3 minute la flacăra unui

[1] Factorul soluției se determină cu acid oxalic exact 0,1 n, în prezența fenolftaleinei. Pentru determinare se pun în trei baloane Erlenmeyer cîte 25 ml soluție de acid oxalic exact 0,1 n, se adaugă cîteva picături de soluție de fenolftaleină 1% (reactivul nr. 21) și se titrează cu soluția de NaOH 0,1 n, pînă la apariția culorii roz.

Factorul soluției de NaOH 0,1 n se calculează cu ajutorul relației:

$$\frac{\text{ml acid oxalic exact 0,1 n}}{\text{ml soluție de NaOH 0,1 n}},$$

luînd în considerație media celor trei titrări.

bec de gaz. Soluția se răcește și apoi se filtrează prin hîrtie de filtru. În extractul obținut se pot pune în evidență potasiul, sodiul și clorul.

2.1.2.1.1. Potasiul

Acest element se pune în evidență prin următoarele procedee:

a. Se toarnă 3—5 ml de extract într-o eprubetă și se adaugă 0,3—0,5 ml de acid percloric — $HClO_4$ — 20% (reactivul nr. 8). În urma reacției se obține un precipitat alb de perclorat de potasiu (solubil în apă fierbinte), după reacția:

$$KCl + HClO_4 \longrightarrow KClO_4 + HCl$$

b. Se pun pe o lamă de microscopie 1—2 picături din extractul apos și se evaporă la flacăra unui bec de gaz, pînă la uscare. După răcire se adaugă o picătură de hexanitrocupriat de sodiu și plumb (reactivul nr. 22), în prezența căruia apar cristale caracteristice de hexanitrocupriat de potasiu și plumb, colorate în verde închis, al căror aspect, văzute la microscop, este redat în figura 2.2. Dacă cristalele sînt subțiri, ele pot fi colorate și în roșu. Reacția care are loc este următoarea:

$$Na_2Pb[Cu(NO_2)_6] + KCl \longrightarrow K_2Pb[Cu(NO_2)_6] + 2NaCl$$

c. Se toarnă 3—5 ml de extract apos într-o eprubetă și se adaugă cîteva picături de cobaltnitrit de sodiu (reactivul nr. 18). În prezența potasiului apare un precipitat galben de cobaltnitrit de sodiu și potasiu, după reacția:

$$2KCl + Na_3[Co(NO_2)_6] \longrightarrow K_2Na[Co(NO_2)_6] + 2NaCl$$

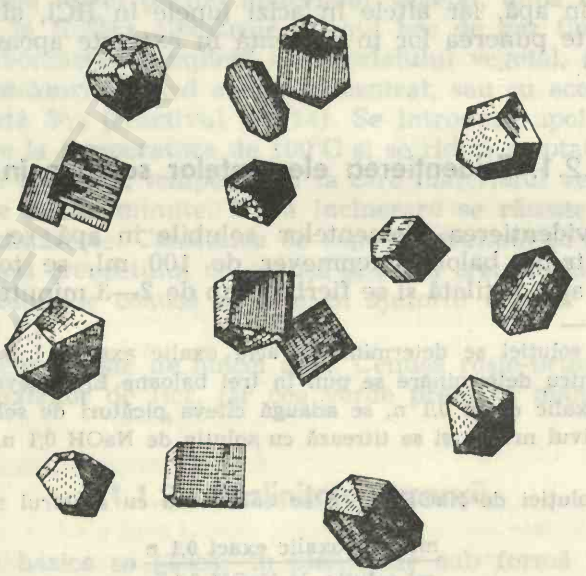


Fig. 2.2. Cristalele de hexanitrocupriat de potasiu și plumb (după Skazkin și colaboratorii).

d. Potasiul poate fi evidențiat și pe cale pirognostică. Pentru aceasta se trece prin flacăra becului de gaz o ansă de platină sau vîrful unui creion, care au fost înmuiate în prealabil în extractul apos și se privește printr-o sticlă de cobalt. Sticla de cobalt absoarbe razele galbene ale sodiului, ceea ce permite observarea culorii roșu-violet deschis, caracteristică pentru potasiu.

2.1.2.1.2. Sodiul

Pentru evidențiere se înmoaie în prealabil o ansă de platină sau vîrful unui creion în extractul apos și se trece prin flacăra unui bec de gaz. Se va observa că sodiul colorează flacăra becului în galben.

2.1.2.1.3. Clorul

Clorul se evidențiază în extract apos obținut din cenușă de tutun *(Nicotiana tabacum)*, țelină *(Apium graveolens)*, glabră *(Salsola soda)*, care sînt bogate în cloruri. În aceste extracte evidențierea clorului se poate face prin următoarele procedee:

a. Se toarnă într-o eprubetă 3—5 ml de extract apos, se acidulează cu o soluție de HNO_3 5% (reactivul nr. 5) și se adaugă apoi cîteva picături de soluție de $AgNO_3$ 3%. În prezența clorului se formează un precipitat alb de clorură de argint, conform reacției:

$$KCl + AgNO_3 \longrightarrow AgCl + KNO_3$$

b. Se pune pe o lamă de microscopie o picătură de extract apos și se tratează cu o picătură de Tl_2SO_4 1%. Se acoperă cu o lamelă și se observă la microscop. În prezența clorului apar cristale caracteristice de TlCl, colorate în negru, conform reacției:

$$2KCl + Tl_2SO_4 \longrightarrow 2TlCl + K_2SO_4$$

2.1.2.2. Evidențierea elementelor solubile în acizi

Cenușa plantelor se introduce, în cantitate de cîte 3 g, în două baloane Erlenmeyer, după care în primul se toarnă 50 ml soluție de HCl 5% (reactivul nr. 7), iar în al doilea aceeași cantitate dintr-o soluție de HNO_3 5% (reactivul nr. 5). Se încălzește conținutul baloanelor la flacăra mică a unui bec de gaz, timp de 5 minute și se filtrează apoi conținutul lor prin cîte o hîrtie de filtru cutată.

În extractul clorhidric se evidențiază fierul, magneziul, aluminiul, calciul, precum și carbonații și sulfații, iar în extractul azotic se evidențiază manganul și fosfații.

2.1.2.2.1. Fierul

În cenușa plantelor fierul se află sub formă de Fe_2O_3, care prin tratare cu HCl trece în $FeCl_3$. În cantități relativ mari fierul se găsește în cenușa obținută din frunze de spanac *(Spinacia oleracea)*, roșii *(Solanum lycopersicum)* și în cea obținută din semințe de muștar *(Sinapis alba)*.

Fierul poate fi evidențiat prin următoarele procedee:

a. Se toarnă 2—3 ml de extract clorhidric într-o eprubetă și se adaugă cîteva picături dintr-o soluție de ferocianură de potasiu 10%. Se obține un precipitat de culoare albastră de ferocianură ferică (albastrul de Berlin), după reacția:

$$4FeCl_3 + 3K_4[Fe(CN)_6] \longrightarrow Fe_4[Fe(CN)_6]_3 + 12KCl$$

ferocianura de potasiu — ferocianura ferică

b. Se iau într-o eprubetă 5 ml de extract clorhidric și se adaugă peste el 1—2 ml dintr-o soluție de sulfocianură de potasiu (KSCN) 5% sau de sulfocianură de amoniu (NH_4SCN) 5%. Se obține o coloratie roșu-închis, datorită formării sulfocianurii ferice, conform reacției:

$$FeCl_3 + 3KSCN \longrightarrow Fe(SCN)_3 + 3KCl$$

2.1.2.2.2. Magneziul

Se toarnă într-un balon Erlenmeyer 10 ml de extract clorhidric, care se tratează cu o soluție de NH_4Cl 10% în exces pentru a se împiedica precipitarea magneziului și apoi se adaugă hidroxid de amoniu concentrat, pînă se ajunge la reacție alcalină care se verifică cu hîrtie indicator. Se încălzește conținutul balonului pînă la 60°C și se adaugă o soluție de $(NH_4)_2CO_3$ pentru a înlătura ionii care maschează reacția. În continuare se încălzește conținutul balonului la fierbere, pînă ce se obține un precipitat cristalin de $CaCO_3$ și $FeCO_3$. Se filtrează conținutul balonului printr-un filtru cutat și în filtrat se pune în evidență magneziul prin adăugarea unei soluții de Na_2HPO_4 12%. În urma reacției:

$$MgCl_2 + Na_2HPO_4 + NH_4OH \longrightarrow MgNH_4PO_4 + 2NaCl + H_2O,$$

se formează cristale de fosfat amoniacomagnezian, care, examinate la microscop, se prezintă sub formă de steluțe sau de aripioare (fig. 2.3).

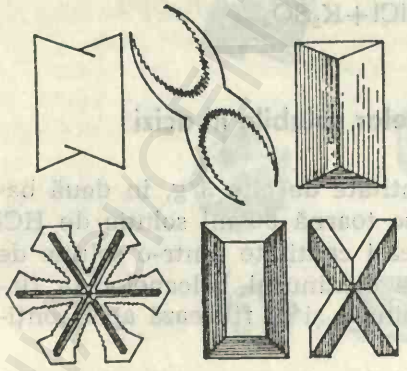


Fig. 2.3. Cristale de fosfat amoniacomagnezian (după Skazkin și colaboratorii).

2.1.2.2.3. Aluminiul

Se iau într-o eprubetă 5—10 ml de extract clorhidric, se adaugă 0,5—1 ml soluție de NaOH 10% și se încăl-

zește conținutul eprubetei la flacăra unui bec de gaz, pînă ce precipită cationii care jenează reacția. Precipitatul format se filtrează, iar filtratul, care conține aluminatul de sodiu ($NaAlO_2$) se acidulează cu acid acetic 10% (reactivul nr. 4). În prezența acidului acetic $NaAlO_2$ se transformă în $Al(OH)_3$. Se adaugă apoi o picătură de soluție de morină 2% (reactivul nr. 27). În prezența aluminiului soluția din eprubetă prezintă o fluorescență de culoare verde, datorită formării aluminiului coloidal, care are formula $Al[C_{15}H_9O_7]_3$.

2.1.2.2.4. Calciul

Calciul poate fi pus în evidență prin următoarele procedee:

a. Se iau într-o eprubetă 5 ml de extract clorhidric și se adaugă 1—2 ml soluție de acid sulfuric 10% (reactivul nr. 9). Se formează cristale aciculare de gips (fig. 2.7 b), conform reacției:

$$CaCl_2 + H_2SO_4 \longrightarrow CaSO_4 + 2HCl$$

b. Se tratează într-o eprubetă 2—3 ml de extract clorhidric cu 1 ml soluție de oxalat de amoniu 5% și se agită eprubeta. În urma reacției se formează un precipitat de oxalat de calcu:

$$CaCl_2 + \begin{matrix} COONH_4 \\ | \\ COONH_4 \end{matrix} \longrightarrow \begin{matrix} COO \\ | \\ COO \end{matrix} \!\!> Ca + 2NH_4Cl$$

2.1.2.2.5. Carbonații

Pentru punerea în evidență a carbonaților se cîntăresc 2—3 g de cenușă, care se introduc într-un balon Erlenmeyer și apoi se toarnă peste ea 10—15 ml de acid clorhidric 10% (reactivul nr. 7). Se astupă balonul cu un dop de cauciuc prin care trece un tub de sticlă îndoit astfel încît capătul lui liber să poată fi introdus într-o eprubetă cu hidroxid de bariu 2‰ (fig. 2.4). Se încălzește ușor balonul timp de 1—2 minute la flacăra unui bec de gaz. În urma reacției carbonaților din extract cu HCl se produce în balon o efervescență, datorită punerii în libertate a CO_2. Reacțiile care au loc sînt următoarele:

$$K_2CO_3 + 2HCl \longrightarrow H_2CO_3 + 2KCl$$

$$H_2CO_3 \longrightarrow CO_2 + H_2O$$

Dioxidul de carbon format va barbota în soluția de $Ba(OH)_2$ din eprubetă, în care se va observa o tulbureală datorită formării carbonatului de bariu, conform reacției:

$$CO_2 + Ba(OH)_2 \longrightarrow BaCO_3 + H_2O$$

Dacă în soluția de $Ba(OH)_2$ se barbotează o cantitate mai mare de CO_2,

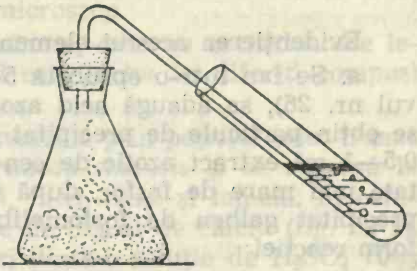


Fig. 2.4. Evidențierea carbonaților din cenușă (după Brugovitzky).

precipitatul de $BaCO_3$ format se va dizolva, rezultînd bicarbonatul de bariu după reacția:

$$BaCO_3 + H_2O \rightleftharpoons Ba(HCO_3)_2$$

Prin încălzire dioxidul de carbon se degajă și precipitatul de $BaCO_3$ reapare în eprubetă.

2.1.2.2.6. Sulfații

Sulfații se evidențiază prin următoarele procedee:

a. Se iau într-o eprubetă 2—3 ml de extract clorhidric și se adaugă cîteva picături de soluție de $BaCl_2$ 5%. La locul de unire a extractului cu reactivul se formează un precipitat alb cristalin de sulfat de bariu, conform reacției:

$$K_2SO_4 + BaCl_2 \longrightarrow BaSO_4 + 2KCl$$

Reacția poate fi efectuată și pe o lamă de microscopie, pe care se pun cîteva picături de extract clorhidric și, alături, o picătură de soluție de $BaCl_2$ 5%, așezată astfel ca să se unească cu extractul.

b. Se iau într-o eprubetă 2—3 ml de extract clorhidric și se adaugă cîteva picături dintr-o soluție de acetat de plumb 5%. Se formează un precipitat alb cristalin de sulfat de plumb, după reacția:

$$K_2SO_4 + (CH_3—COO)_2Pb \longrightarrow PbSO_4 + 2CH_3—COOK$$

2.1.2.2.7. Manganul

Se iau într-o eprubetă 5 ml de extract azotic de cenușă de porumb sau de conifere, se adaugă aceeași cantitate de HNO_3 concentrat și un vîrf de cuțit de PbO_2 și se fierbe cu atenție la flacără mică. După depunerea excesului de PbO_2 pe fundul eprubetei, lichidul se colorează în violet purpuriu datorită acidului permanganic format, conform reacțiilor:

$$MnO_2 + 2HNO_3 \longrightarrow Mn(NO_3)_2 + H_2O$$

$$2Mn(NO_3)_2 + 5PbO_2 + 6HNO_3 \longrightarrow \underset{\text{acid permanganic}}{2HMnO_4} + 5Pb(NO_3)_2 + 2H_2O$$

2.1.2.2.8. Fosforul

Evidențierea acestui element se face prin următoarele procedee:

a. Se iau într-o eprubetă 5 ml de molibdat de amoniu 10% (reactivul nr. 26), se adaugă acid azotic concentrat pînă în momentul în care se obțin particule de precipitat și se fierbe 1—2 minute. Se adaugă apoi 0,5—1 ml extract azotic de cenușă. Dacă soluția testată conține o cantitate mai mare de fosfor, după 2—3 minute se formează în eprubetă un precipitat galben de fosfomolibdat de amoniu (compus complex), conform reacției:

$$K_3PO_4 + 12(NH_4)_2MoO_4 + 24HNO_3 \rightarrow (NH_4)_3[P(Mo_3O_{10})_4] + 21NH_4NO_3 + KNO_3 + 12H_2O$$

În cazul cînd extractul conține fosfor puțin, conținutul eprubetei se colorează în galben.

b. Se pune o picătură de extract azotic pe o lamă de microscopie, alături de care se pune o picătură de molibdat de amoniu 10% (reactivul nr. 26) amestecată cu o picătură de acid azotic concentrat. Se unesc cele două picături cu un capilar de sticlă și după o ușoară încălzire (la 50—60°C) la linia de unire dintre picături apar cristale galbene romboedrice de fosfomolibdat de amoniu (fig. 2.5), care se observă la microscop.

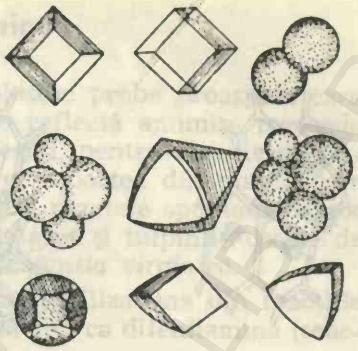


Fig. 2.5. Cristale de fosfomolibdat de amoniu (după Skazkin și colaboratorii).

2.1.3. EVIDENȚIEREA ELEMENTELOR CHIMICE DIN CORPUL PLANTELOR PE CALE HISTOCHIMICĂ

Prin reacții histochimice pot fi evidențiate în corpul plantelor elementele fier, calciu și azotul amidic.

a. *Fierul.* Pentru evidențierea fierului se folosesc semințe de muștar *(Sinapis alba)* îmbibate timp de 3—5 ore în apă distilată. Se scot cotiledoanele cu ajutorul unei pense cu vîrful de os, spre a nu veni în contact cu fierul (eventual ne putem folosi de unghii) și se introduc într-o cutie Petri, turnînd peste ele o soluție de $K_4Fe(CN)_6$ 5%. După 2—4 ore se trec cotiledoanele într-o altă cutie Petri și se tratează cu 2—3 ml soluție de HCl 10% (reactivul nr. 7). După 10—15 minute se poate observa chiar cu ochiul liber rețeaua albastră de nervuri a cotiledoanelor (fig. 2.6), datorată reacției caracteristice pentru formarea albastrului de Berlin (v. paragraful 2.1.2.2.1 a), care apare în zonele unde este localizat fierul. Se scot cotiledoanele din soluția de HCl 10%, cu ajutorul unei pense cu vîrf de os sau cu o spatulă de sticlă, se spală cu apă distilată și se pun într-o soluție de cloral hidrat 5% (reactivul nr. 17) pentru clarificarea lor. După 5—10 minute se așază cotiledoanele pe o lamă de microscopie și se examinează la microscop.

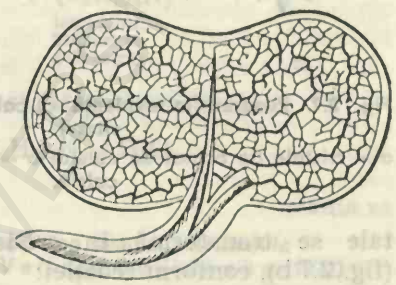


Fig. 2.6. Localizarea fierului în cotiledoanele de *Sinapis alba* (după Molisch).

Reacția nu reușește cu semințe germinate, care au cotiledoanele ieșite, deoarece în timpul germinării fierul este inclus în diferiți compuși organici.

b. *Calciul.* Se pregătesc secțiuni transversale prin pețiolul unei frunze de *Begonia sempervirens, B. rex* sau *Primula sinensis* și se observă la microscop într-o picătură de apă distilată, între lamă și lamelă. În celulele parenchimatoase se vor vedea cristale de oxalat de calciu (fig. 2.7 a). Dacă se introduc sub lamelă 1—2 picături dintr-o soluție de H_2SO_4 70% (reactivul nr. 9), sugînd apa la partea opusă a lamelei, cu ajutorul unei bucăți de hîrtie de filtru, după puțin timp se va constata că aceste cris-

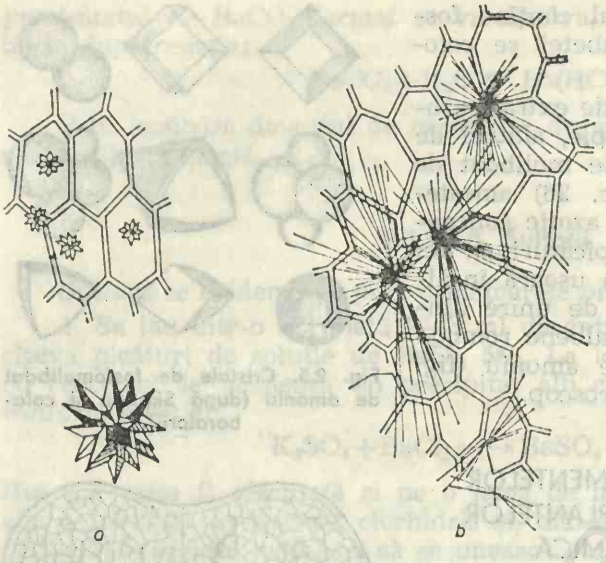


Fig. 2.7. Punerea în evidență a calciului (după Brugovitzky):
a – cristale de oxalat de calciu; b – cristale de sulfat de calciu.

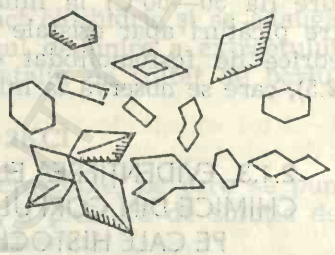


Fig. 2.8. Cristale de asparagină (după Molisch).

tale se transformă în cristale de gips ($CaSO_4$) de formă aciculară (fig. 2.7 b), conform reacției:

$$\begin{matrix} COO \\ | \\ COO \end{matrix}\!\!>\!Ca + H_2SO_4 \longrightarrow CaSO_4 + \begin{matrix} COOH \\ | \\ COOH \end{matrix}$$

c. *Azotul amidic.* Se pregătesc secțiuni, nu prea subțiri, prin axa hipocotilă de lupin etiolat, se pun pe o lamă de microscopie, se adaugă 1—2 picături de alcool absolut, se acoperă cu lamela, se așteaptă pînă se usucă preparatul și se examinează la microscop. Se vor observa cristale romboedrice incolore de asparagină (fig. 2.8). Pentru a deosebi cristalele de asparagină de alte cristale de formă asemănătoare, se încălzește preparatul la 100°C timp de 1—2 minute. În urma acestui tratament asparagina pierde apa de cristalizare și se transformă în picături incolore care, la 200°C, se colorează în brun și apoi se descompun degajînd un miros caracteristic.

2.1.4. ALTE PROCEDEE DE EVIDENȚIERE A UNOR ELEMENTE CHIMICE DIN CORPUL PLANTELOR

Elementul azot (existent în corpul plantelor sub formă de azot nitric, azot amoniacal și azot amidic) poate fi pus în evidență prin reacții dintre care unele se fac direct pe materialul vegetal, iar altele pe extracte apoase ale probelor de analizat.

2.1.4.1. Azotul nitric

Pentru evidențierea azotului nitric se folosesc probe proaspete care se recoltează în diferite faze de vegetație, ce reflectă anumite perioade critice de nutriție. Speciile la care se aplică testul, pentru aprecierea stării lor de aprovizionare cu elemente nutritive și partea din plantă care se testează, sînt prezentate în tabelul 2.1. Dintre plantele spontane se pot utiliza în vederea evidențierii acestei forme de azot și tulpinile uscate de *Nicotiana tabacum, Urtica dioica* sau de *Tradescantia virginica.*

Pentru identificarea azotului nitric se poate utiliza una din reacțiile date de ionul nitric (NO_3^-) în prezența unor reactivi ca difenilamina (reactivul nr. 20) și brucina (reactivul nr. 15).

a. *Reacția cu difenilamină* este o reacție de culoare între această substanță și ionul nitric, în prezența oxigenului:

$$\underset{\substack{\text{ionul}\\\text{nitric}\\\text{(incolor)}}}{NO_3^-} + 2\underset{\substack{\text{difenilamina}\\\text{(incolor\u0103)}}}{C_6H_5—NH—C_6H_5} \longrightarrow \underset{\substack{\text{tetrafenil-}\\\text{hidrazina}\\\text{(albastr\u0103)}}}{(C_6H_5)_4N_2}$$

Coloratia albastră apare ca urmare a oxidării difenilaminei:

$$2(C_6H_5)_2NH + 1/2O_2 \longrightarrow (C_6H_5)_4N_2 + H_2O$$

TABELUL 2.1

Principalele specii la care se recomandă efectuarea testului colorimetric pentru azotul nitric (după D. Davidescu și Velicia Davidescu, 1972)

Specia	Partea caracteristică ce se testează
Castravete	Peţiolul frunzelor mature, la începutul înfloririi și fructificării
Morcov	Peţiolul frunzelor mature, la mijlocul perioadei de vegetaţie
Mazăre	Peţiolul de la frunza a treia de sub vîrf, cînd planta are 6—9 internodii
Pepene galben	Peţiolul de la frunzele mature, la începutul înfloririi și fructificării
Ridiche	Frunzele mature
Sfecla de zahăr	Peţiolul de la frunzele mature, la mijlocul perioadei de vegetaţie
Ţelina	Peţiolul de la frunzele mature, la mijlocul perioadei de vegetaţie
Tomate	Peţiolul de la frunzele mature, la începutul legării fructelor
Viţa de vie	Peţiolul de la frunzele mature, în faza de înflorire a plantelor

Cu ajutorul unui brici sau lame de ras se secționează longitudinal pețiolul frunzelor pe porțiunea mai groasă care se prinde de tulpină, pe o lungime de 0,2—0,5 cm. Se aplică 1—2 picături de soluție de difenilamină 0,3% pe secțiunea proaspătă și se apreciază gradul de aprovizionare a plantei cu azot nitric după intensitatea culorii albastre care apare în primele 5—10 secunde de la aplicarea reactivului. Dacă culoarea nu apare în acest interval și țesutul se brunifică, aceasta se datorește acidului sulfuric din soluția de difenilamină, culoare care nu are nici o legătură cu testarea conținutului în azot nitric.

b. Reacția cu brucină implică o tehnică de lucru identică cu cea prezentată în paragraful 2.1.4.1 a, cu deosebirea că se obține o culoare portocalie.

c. Azotul nitric mai poate fi evidențiat în extracte apoase concentrate, obținute prin fierberea a 5—10 g de bucăți de tulpini aparținînd la specii bogate în azotați. Fierberea se face în apă distilată timp de 10 minute. Se iau într-o eprubetă 2—3 ml de extract și, cu ajutorul unei pipete, se introduce la fundul eprubetei 1 ml de H_2SO_4 concentrat, care, fiind mai greu decît extractul, rămîne la fundul eprubetei, ridicînd deasupra lui extractul de azotați. Se adaugă apoi cu o pipetă 1—2 picături de brucină sau difenilamină. În cazul brucinei, la linia de contact dintre H_2SO_4 și extract se obține un inel colorat în portocaliu, iar în cazul tratării extractului cu difenilamină un inel colorat în albastru.

2.1.4.2. Azotul nitros

Pentru evidențiere se iau într-o eprubetă 3—4 ml de extract apos, concentrat, rezultat prin fierberea în apă distilată a cîtorva bucăți de tulpini de *Amaranthus retroflexus* (știr sălbatic) și se toarnă peste el acid sulfuric concentrat și o cantitate dublă dintr-o soluție de iodură de potasiu amidonată, preparată prin amestecarea unor părți egale de soluție de KJ 1% și de clei de amidon 1% (reactivul nr. 16). Se obține imediat o colorație albastră în cazul prezenței unei cantități mari de azotiți în materialul vegetal, sau după un interval de 15—30 minute dacă extractul este mai sărac în săruri azotoase.

Se produc următoarele reacții:

$$2KNO_2 + H_2SO_4 \longrightarrow K_2SO_4 + 2HNO_2$$

$$2KJ + H_2SO_4 \longrightarrow K_2SO_4 + 2HJ$$

$$2HNO_2 + 2HJ \longrightarrow NO + 2H_2O + J_2$$

Iodul pus în libertate colorează în albastru amidonul din soluția de iodură de potasiu amidonată, introdusă în mediul de reacție.

2.1.4.3. Azotul amoniacal

Azotul amoniacal poate fi pus în evidență prin următoarele procedee:

a. Se iau într-un balon Erlenmeyer 5—10 g de fragmente de rădăcini de sfeclă sau bulb de ceapă, tăiate mărunt. Se adaugă 25—30 ml soluție de KOH sau NaOH 10%, se astupă balonul cu un dop de cauciuc

străbătut de un tub de sticlă al cărui capăt extern este introdus într-o eprubetă care conține 10—15 ml de apă distilată și 1—2 picături de fenolftaleină 1% (reactivul nr. 21) ca indicator, după care se încălzește conținutul balonului pe un tripied acoperit cu o placă de azbest. În urma degajării amoniacului pe seama sărurilor de amoniu din celule, fenolftaleina se colorează în roșu, mai mult sau mai puțin intens, în funcție de cantitatea de amoniac ce se degajă.

b. Dacă în locul eprubetei cu fenolftaleină se pune o eprubetă cu reactiv Nessler (reactivul nr. 31) diluat cu apă distilată (după ce în prealabil s-a șters capătul extern al tubului de sticlă fixat în dopul balonului Erlenmeyer, se obține un precipitat galben-portocaliu, a cărui cantitate este în funcție de cantitatea de amoniac degajat.

2.1.4.4. Azotul amidic

Asparagina (amida acidului aspartic) se află în cantitate destul de mare în plantulele de leguminoase. Plantulele etiolate de lupin, lungi de 10—12 cm, conțin pînă la 20% asparagină din greutatea lor uscată.

Pentru evidențierea azotului amidic se triturează într-un mojar 50 g de hipocotile etiolate de lupin. Terciul obținut se filtrează printr-un tifon, presîndu-l cu degetele. Sucul obținut se colectează într-o eprubetă care se încălzește apoi pe o baie de apă, pentru îndepărtarea substanțelor proteice, care prin încălzire se coagulează. Se filtrează sucul printr-un filtru cutat pentru îndepărtarea substanțelor proteice, după care se iau 5 ml de filtrat într-o eprubetă, se adaugă 25 ml de alcool absolut, se agită bine eprubeta și se lasă în repaus. În filtrat apar, după 3—5 minute, cristale caracteristice de asparagină (fig. 2.8).

2.1.5. PROCEDEE CANTITATIVE PENTRU DETERMINAREA UNOR ELEMENTE MINERALE ABSOLUT NECESARE, EXISTENTE ÎN CORPUL PLANTELOR

Dintre elementele minerale absolut necesare pentru creșterea și dezvoltarea plantelor, se acordă o atenție deosebită elementelor azot, fosfor și potasiu, a căror prezență în mediu, în cantități și raporturi optime, influențează puternic nivelul recoltelor.

2.1.5.1. Determinarea azotului total prin procedeul Kjeldahl

Azotul total reprezintă suma azotului organic și anorganic din materialul cercetat.

Principiul procedeului constă în digestia (mineralizarea) materiei organice pentru a converti azotul în amoniu și determinarea amoniului format în procesul de digestie, prin distilare și titrare.

Digestia materiei organice se face prin fierberea probei cu acid sulfuric concentrat, în prezența unor catalizatori care favorizează creșterea temperaturii de digestie. În urma reacției materia organică se descom-

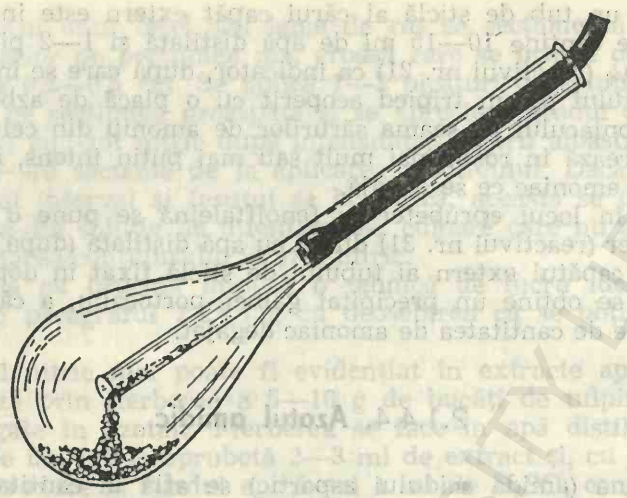


Fig. 2.9. Modul de introducere a materialului vegetal în balonul Kjeldahl.

pune în diferite componente: carbonul se elimină sub formă de dioxid de carbon, oxigenul și hidrogenul sub formă de apă, iar azotatul este transformat în amoniac. Acesta din urmă formează cu acidul sulfuric, prezent în mediu, sulfat de amoniu. Prin tratarea sulfatului de amoniu cu o soluție concentrată de hidroxid de sodiu, amoniacul se pune în libertate și se distilă, captîndu-se într-un volum cunoscut de acid sulfuric. După captarea cantitativă a amoniacului, excesul de acid sulfuric se titrează cu o soluție de hidroxid de sodiu 0,1 n. Cantitatea de amoniac captat (respectiv de azot echivalent) se calculează după volumul acidului sulfuric neutralizat de amoniacul rezultat.

Modul de lucru. Se cîntăresc 0,2—2 g din materialul vegetal uscat la 60°C și fin măcinat în prealabil, sau 5—10 g din materialul vegetal proaspăt recoltat și se introduce proba într-un balon Kjeldahl de 250 ml (fig. 2.9), în așa fel încît să nu rămînă material vegetal pe gîtul balonului. Se adaugă 10 g de catalizator (alcătuit dintr-un amestec în părți egale de Na_2SO_4, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ și $HgSO_4$) și se toarnă în balon acid sulfuric concentrat (într-o cantitate de circa 10 ml pentru fiecare gram de material vegetal uscat la aer), cu care se spală și gîtul balonului pentru a antrena tot materialul vegetal rămas eventual pe el. Se închide gura balonului cu o pară de sticlă și se așază balonul în poziție oblică pe stativul de mineralizare (fig. 2.10), pe o placă de azbest prevăzută cu orificii de 6 cm în diametru, după care se încălzește ușor, în așa fel încît lichidul să se găsească în vecinătatea punctului de fierbere. Această operație durează 3—4 ore, pînă ce lichidul capătă o culoare verde curată, fapt ce arată că a avut loc mineralizarea completă. Din acest moment încălzirea se continuă încă 10 minute la flacără mică.

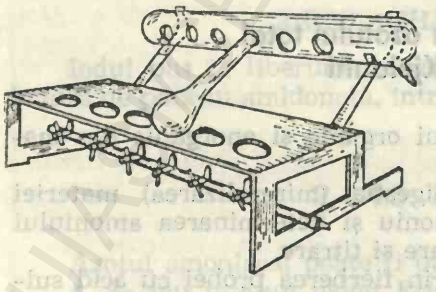


Fig. 2.10. Stativ pentru mineralizare (după Bíró).

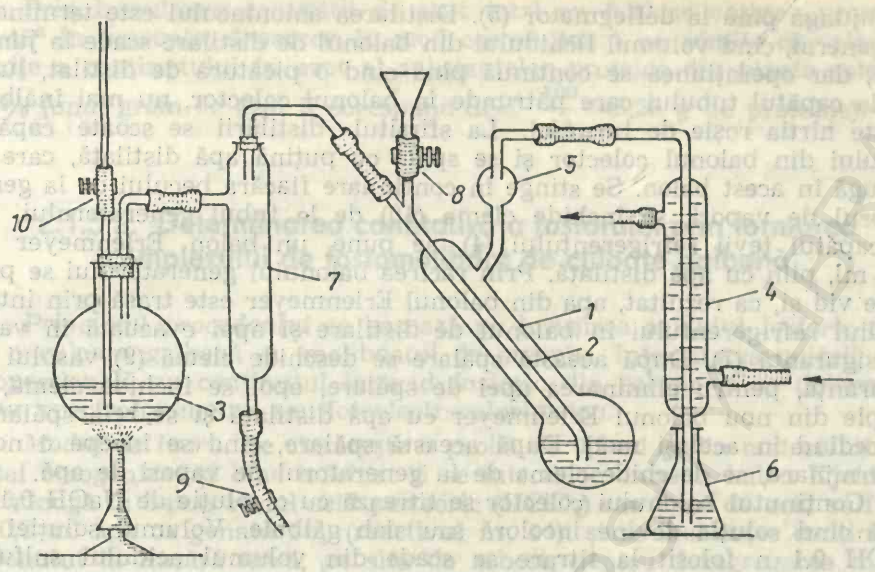


Fig. 2.11. Aparatul Parnas – Wagner:

1 – balon cu fund rotund și git lung; 2 – țeavă de sticlă, care ajunge pînă aproape de fundul balonului; 3 – generator de vapori de apă; 4 – refrigerent; 5 – deflegmator; 6 – vas colector; 7 – vas de siguranță; 8 – clemă Hoffmann, care permite deschiderea și închiderea pîlniei prin care se introduc proba și reactivii în aparat; 9 – clemă Hoffmann; 10 – clemă Hoffmann.

După răcire se diluează conținutul balonului Kjeldahl cu aproximativ 50 ml de apă distilată și se trece în balonul de distilare al unui aparat Parnas-Wagner (fig. 2.11), prin pîlnia acestuia, deschizînd în prealabil clema (8), care permite comunicarea balonului de distilare cu exteriorul. În balonul de distilare se mai adaugă cîteva granule de porțelan poros, 5—6 picături de fenolftaleină 1% (reactivul nr. 21) și circa 40—80 ml de hidroxid de potasiu 33% (în general un volum de patru ori mai mare decît cel al acidului sulfuric folosit la mineralizare), pînă cînd lichidul din balon se colorează în violet intens. Ca balon colector se folosește un balon Erlenmeyer de 100—150 ml, în care se introduc dintr-o biuretă 25—50 ml de acid sulfuric 0,1 n (reactivul nr. 9) și 2—3 picături de indicator roșu de metil 0,1% (reactivul nr. 32), după care se așază în așa fel încît capătul tubului prin care se colectează distilatul să fie introdus în soluția de acid sulfuric.

După efectuarea acestor operații se pornește încălzirea apei din generatorul de vapori (3) și se începe distilarea amoniacului, dînd drumul vaporilor de apă să circule prin aparat și menținînd o încălzire potrivită sub generator. În același timp se închide clema (8) prin care s-au introdus reactivii în balonul de distilare și clema (9) vasului de siguranță (7). Clema (10) de la tubul generatorului, care este imers pînă la fundul acestuia și care menține presiunea în generator la o atmosferă, rămîne deschisă în tot timpul distilării. Totodată se dă drumul apei să circule în refrigerent (4) pentru ca vaporii care dizolvă amoniacul să se poată condensa și prinde mai ușor în vasul colector (6). Încălzirea apei din generator trebuie făcută astfel ca antrenarea vaporilor de amoniac din balonul de distilare să nu se facă prea puternic și lichidul din acest balon să

nu ajungă pînă la deflegmator (5). Distilarea amoniacului este terminată, în general, cînd volumul lichidului din balonul de distilare scade la jumătate, dar operațiunea se continuă pînă cînd o picătură de distilat, luată de la capătul tubului care pătrunde în balonul colector, nu mai înălbăstrește hîrtia roșie de turnesol. La sfîrșitul distilării se scoate capătul tubului din balonul colector și se spală cu puțină apă distilată, care se adaugă în acest balon. Se stinge în continuare flacăra becului de la generatorul de vapori, se închide clema (10) de la tubul generatorului, iar la capătul țevii refrigerentului (4) se pune un balon Erlenmeyer de 200 ml, plin cu apă distilată. Prin răcirea balonului generatorului se produce vid și, ca rezultat, apa din balonul Erlenmeyer este trasă prin intermediul refrigerentului în balonul de distilare și apoi evacuată în vasul de siguranță (7). După această spălare se deschide clema (9) vasului de siguranță, pentru eliminarea apei de spălare, apoi se închide clema, se umple din nou balonul Erlenmeyer cu apă distilată și se reia spălarea, procedînd în același mod. După această spălare, cînd se începe o nouă determinare, se deschide clema de la generatorul de vapori de apă.

Conținutul balonului colector se titrează cu o soluție de NaOH 0,1 n, pînă cînd soluția devine incoloră sau slab gălbuie. Volumul soluției de NaOH 0,1 n folosit la titrare se scade din volumul acidului sulfuric 0,1 n pus în vasul de colectare. Diferența de acid sulfuric (în mililitri) este echivalentă cu cantitatea de amoniac fixat. Conținutul procentual de azot se calculează avînd în vedere că la 1 ml de soluție de H_2SO_4 0,1 n corespund 0,0014 g de azot. Calculul cantității de azot total din probă se face cu ajutorul relației:

$$\frac{(a \cdot f_1 - b \cdot f_2) \cdot 0{,}0014 \cdot 100}{m},$$

în care:

a= volumul soluției de acid sulfuric 0,1 n din balonul colector (în mililitri);
f_1= factorul soluției de acid sulfuric 0,1 n[1];
b= volumul soluției de hidroxid de sodiu 0,1 n folosit la titrare (în mililitri);
f_2= factorul soluției de hidroxid de sodiu 0,1 n[2];
m= masa probei luate la analiză (în grame);
0,0014= cantitatea de azot (în grame) care corespunde la 1 mililitru de soluție de acid sulfuric exact 0,1 n;
100= factor de raportare a rezultatului în procente.

---

[1] Pentru aflarea factorului se pun în trei baloane Erlenmeyer cîte 25 ml din soluția de acid sulfuric 0,1 n, se încălzește conținutul baloanelor pînă la fierbere (pentru îndepărtarea CO_2 din soluție), se adaugă după răcire cîteva picături de soluție de fenolftaleină 1% (reactivul nr. 21) și se titrează conținutul baloanelor cu o soluție de NaOH 0,1 n, cu factorul cunoscut, pînă la apariția culorii roz.

Factorul soluției de acid sulfuric se calculează cu ajutorul relației:

$$\frac{\text{ml soluție de NaOH} \cdot \text{factorul soluției de NaOH}}{\text{ml soluție de acid sulfuric}},$$

luînd în considerație media celor trei titrări.

[2] Factorul soluției de NaOH 0,1 n se determină după procedeul menționat la p. 95.

Prin înmulțirea cantității de azot total cu 6,25 se obține „proteina brută" în procente, deoarece, în mod convențional, se admite că valoarea medie a conținutului în azot al substanțelor proteice din plante este de 16% (unui gram de azot îi corespund deci $\frac{100}{16}$ =6,25 g de proteine).

2.1.5.2. Determinarea cantitativă a fosforului prin formarea complexului de fosfomolibdat de culoare galbenă

Principiul procedeului se bazează pe însușirea acidului fosforic de a da o culoare galbenă cu molibdatul de amoniu. Intensitatea culorii este proporțională cu conținutul în acid fosforic din soluție și se determină la un spectrofotometru, sau fotoelectrocolorimetru.

Modul de lucru. Se cîntărește o probă de 0,5—1 g din materialul vegetal omogenizat și bine măcinat și se introduce într-un balon Kjeldahl. Se adaugă în balon 10 ml acid percloric ($HClO_4$) sau 2 ml de acid sulfuric și 0,2 ml apă oxigenată 1% (reactivul nr. 14). și se încălzește conținutul balonului la flacără mică, pe sita de azbest, pentru dezagregarea materialului vegetal. Cînd lichidul din balon devine incolor, mineralizarea este terminată. Se lasă balonul în repaus 5—10 minute ca să se răcească, apoi se trece soluția din balon într-un cilindru gradat și se completează pînă la 100 ml cu apă distilată. Din această soluție se pipetează într-un balon cotat de 50 ml, 5—10 ml (în dependență de conținutul de P_2O_5 din probă), se adaugă 50 ml de molibdat de amoniu (reactivul nr. 26), 25 ml de acetonă și se completează cu apă distilată pînă la semn. Se obține o soluție de culoare galbenă. După 10 minute se măsoară soluția la spectrofotometru (la λ=340 nm) conform procedeului descris în paragraful 10.4.1, sau la fotoelectrocolorimetrul F.E.K.-M (la λ=465 nm, utilizînd filtrul M-17) conform procedeului descris în paragraful 10.3.2.

Paralel cu operațiile descrise, se pregătește soluția etalon (standard) în modul următor: se cîntăresc 1,9157 g de KH_2PO_4 și se dizolvă într-un litru de apă distilată (1 ml din această soluție conține 1,0 mg P_2O_5). Pentru fotometrare se diluează această soluție de 10 ori, deci 1 ml de soluție etalon va conține 0,1 mg P_2O_5. Se tratează apoi soluția etalon cu molibdat de amoniu și acetonă, în același mod ca și cea obținută din proba analizată și se măsoară la același aparat la care s-a făcut măsurătoarea anterioară.

Conținutul procentual de fosfor (P_2O_5) se calculează comparînd prin regula de trei simplă extincția soluției etalon cu extincția soluției analizate, ținînd cont de faptul că 1 ml de soluție etalon conține 0,1 mg P_2O_5.

2.1.5.3. Determinarea volumetrică a potasiului total

Principiul procedeului constă în precipitarea potasiului din soluția clorhidrică de cenușă, sub formă de cobaltnitrit de sodiu și potasiu, conform reacției:

$$2KCl + Na_3Co(NO_2)_6 \longrightarrow K_2Na[Co(NO_2)_6] + 2NaCl$$

Ulterior, cobaltnitritul de sodiu și potasiu se descompune în mediu acid cu permanganat de potasiu 0,1 n în exces, conform reacției:

$$2K_2Na[Co(NO_2)_6]+11KMnO_4+15H_2SO_4 \longrightarrow$$

$$\longrightarrow 15KNO_3+5NaNO_3+3K_2SO_4+11MnSO_4+5Co(NO_3)_2+14H_2O$$

Se retitrează apoi cu acid oxalic permanganatul aflat în exces.

Procedeul este deosebit de avantajos deoarece permite dozarea potasiului direct din cenușa trecută în soluție, chiar dacă aceasta conține aluminiu, fier, calciu, ioni fosforici și sulfurici.

Modul de lucru. Din cenușa obținută prin incinerare uscată (conform procedeului descris în paragraful 2.1.1.1.1), trecută apoi în HCl (conform procedeului prezentat în paragraful 2.1.3) se ia o cotă parte de 100 ml și se trece într-o capsulă de porțelan. Pentru îndepărtarea sărurilor de amoniu se supune întîi evaporării pe baia de apă și apoi se ține la flacără mică (sub nișe), fără încălzire pînă la roșu, întrucît aceasta poate duce la pierderi de potasiu prin volatilizare. După evaporare se lasă capsula să se răcească, se reia reziduul din ea cu 3—4 ml acid azotic 10% (reactivul nr. 5) și se filtrează într-o capsulă mică, spălînd de 2—3 ori capsula în care a fost reziduul, cu cîte 2—3 ml de apă distilată fierbinte, care se adaugă peste filtrat. Filtratul obținut se aduce prin evaporare pe baia de apă la un volum de circa 10 ml, după care se adaugă în el, picătură cu picătură, circa 6 ml de cobaltnitrit de sodiu 10% (reactivul nr. 18), pentru precipitarea potasiului. Se evaporă din nou pe baia de apă, amestecînd în permanență cu o baghetă de sticlă (care nu se scoate din capsulă), pînă la consistența unei paste. Se lasă să se răcească și apoi se reia reziduul din capsulă cu 3 ml acid acetic, care se adaugă treptat, amestecînd tot timpul conținutul capsulei cu bagheta, după care se mai adaugă 10 ml de apă distilată, fără a întrerupe amestecarea. Se separă apoi precipitatul galben de nitrit de cobalt, sodiu și potasiu, printr-un creuzet filtrant, de sticlă, cu pori fini, după care se spală precipitatul de 2—3 ori cu o soluție de sulfat de sodiu 2,5%, pînă se obține un filtrat incolor. Se introduce apoi creuzetul cu precipitatul într-un pahar Berzelius de 600 ml, care în prealabil a fost ținut 5 minute într-o soluție de permanganat de potasiu acidulată cu acid sulfuric și încălzită la fierbere și apoi spălat cu apă distilată. Se adaugă peste creuzetul din pahar 250 ml de apă distilată fierbinte și 50 ml de permanganat de potasiu 0,1 n. Se trece paharul pe o baie de apă, menținîndu-se fierberea, se amestecă conținutul lui cu o baghetă de sticlă timp de 2—3 minute, se adaugă, picătură cu picătură, 10—15 ml de acid sulfuric 20% (reactivul nr. 9) și se amestecă în continuare conținutul paharului pînă la dizolvarea completă a precipitatului galben. Dacă în acest timp soluția își pierde colorația violetă, înseamnă că nu a fost suficientă cantitatea de permanganat de potasiu adăugată anterior și se mai adaugă imediat 5 ml din acest reactiv. După aceea, pentru decolorarea soluției din pahar se adaugă în el, dintr-o biuretă, acid oxalic 0,1 n în exces și apoi se face o retitrare a excesului de acid oxalic cu permanganat de potasiu 0,1 n, pînă ce conținutul paharului devine roz deschis.

Conținutul procentual de potasiu, exprimat la substanța uscată, se calculează luînd în considerare faptul că 1 ml de permanganat de potasiu 0,1 n oxidează o cantitate de nitrit de sodiu, cobalt și potasiu cores-

punzătoare la 0,0007109 g K, respectiv la 0,0008563 g K_2O, recurgînd la relațiile:

$$K = \frac{0{,}0007109 \cdot V(V_1 \cdot f_1 - V_2 \cdot f_2)}{X \cdot m} \cdot 100$$

$$K_2O = \frac{0{,}0008563 \cdot V(V_1 \cdot f_1 - V_2 \cdot f_2)}{X \cdot m} \cdot 100,$$

în care:

V=volumul total de soluție obținut la solubilizarea cenușii (în ml);
V_1=volumul total de permanganat de potasiu 0,1 n utilizat (în ml);
V_2=volumul de acid oxalic 0,1 n utilizat (în ml);
f_1=factorul de corecție al soluției de permanganat de potasiu 0,1 n[1];
f_2=factorul de corecție al soluției de acid oxalic 0,1 n[2];
X=cota parte din soluția luată la analiză (în ml);
m=masa probei de material vegetal uscat din care s-a pregătit cenușa (în grame);
100=factor pentru raportarea rezultatului în procente.

2.2. SOLUL

Solul, natural sau modificat de om, se caracterizează printr-o compoziție organo-minerală complexă. El apare constituit din trei categorii de substanțe, corespunzătoare celor trei stări de agregare a materiei:

— substanțe solide, care constituie așa numita fază solidă sau materia solidă a solului;

— apa încărcată cu substanțe solubilizate și coloidal dispersate, care reprezintă faza lichidă a solului;

— aerul (cu conținut de azot, oxigen, dioxid de carbon, alte gaze, vapori de apă), care formează faza gazoasă a solului.

Din cuprinsul acestui complex natural mai face parte și lumea vie (a mezofaunei și microorganismelor), care este agentul principal al transformărilor ce au loc în sol.

Analizele chimice ale solului pot fi efectuate pe probe proaspete, adică cu umiditatea ce o au în momentul ridicării, sau pe probe uscate la aer. Prin uscarea solului se produc însă modificări care afectează rezultatele analizelor cantitative pentru unele substanțe din compoziția lui.

---

[1] Pentru determinarea factorului se pun în trei baloane Erlenmeyer cîte 25 ml de soluție de acid oxalic 0,1 n, se adaugă cîte 5 ml de soluție de acid sulfuric diluat (preparat prin turnarea, cu precauție, peste 4 volume de apă a unui volum de H_2SO_4 cu d=1,84), se încălzește conținutul baloanelor pînă la 70—80°C și, după răcire, se titrează cu soluția de $KMnO_4$ pînă la apariția culorii roz, care trebuie să persiste timp de un minut.

Factorul soluției de $KMnO_4$ se calculează după formula:

$$\frac{\text{ml acid oxalic 0,1 n}}{\text{ml } KMnO_4}$$

luînd în considerare media celor trei titrări.

[2] Factorul soluției de acid oxalic este egal cu 1,0000.

2.2.1. PRELEVAREA PROBELOR PARȚIALE ȘI ALCĂTUIREA PROBELOR MEDII DE SOL

După ce terenul a fost delimitat în unități analitice, se stabilește numărul de probe parțiale (subprobe) ce urmează a fi luate din fiecare unitate analitică și numărul de probe medii, notîndu-se pe plan și pe teren locurile de unde urmează să se ridice probele.

Din probele parțiale ridicate de pe o unitate analitică se face apoi o probă medie, pe baza căreia se efectuează apoi evaluarea nivelului mediu de fertilitate a teritoriului respectiv, adică al unității analitice.

Numărul probelor ce se ridică este în funcție de scopul cercetării și condițiile de relief, uniformitatea solului, expoziția, forma tarlalei, modul de folosire a acesteia.

Precizia valorii medii ce caracterizează starea de fertilitate a unității analitice testate depinde de numărul probelor parțiale ridicate pentru alcătuirea probei medii. În cadrul unei cercetări științifice amănunțite se ridică 30—50 de probe medii de pe o unitate analitică și se analizează separat fiecare. Pentru condiții de producție se pot face 1—2 probe medii din amestecarea celor 30—50 de probe parțiale ridicate de pe o unitate de 3—5 ha, pentru a obține o precizie de 100% din media reală a cîmpului.

Probele parțiale se iau pe adîncimea de 0—20 cm pentru terenurile arabile și de 0—10 cm pentru pajiști. Pentru livezi se iau în plus și probe de la adîncimea de 20—40 cm. De la capetele tarlalelor nu se iau probe. De asemenea, nu se iau probe de pe terenurile curînd îngrășate.

Probele de sol se iau cu un utilaj adecvat (sonde, cazmale). Fiecare probă trebuie să aibă același volum și aceeași greutate. În timpul ridicării probelor și a manipulării acestora trebuie evitată contaminarea lor. Cînd dintr-o unitate analitică se ia o probă medie, aceasta se obține prin amestecarea bine între ele a probelor individuale, la fața locului, pe o mușama, folie de plastic sau de placaj. Cînd se urmărește dinamica elementelor nutritive, probele se ridică în diferite faze de vegetație, perioade critice și de consum maxim al plantelor.

Probele de sol se ridică atunci cînd solul nu este prea umed. Probele medii sau individuale se ambalează în săculeți de pînză, plicuri de hîrtie sau pungi de plastic și se etichetează, notîndu-se cu un creion pe ambalaj numărul probei, localitatea, data ridicării probei, asolamentul, modul de utilizare a terenului. O etichetă asemănătoare se introduce și în interiorul ambalajului.

2.2.2. PREGĂTIREA PROBELOR DE SOL PENTRU ANALIZĂ

Analizele se fac pe probe proaspete, cu umiditatea ce o au la ridicarea din cîmp, sau pe probe uscate la aer. În cazurile cînd se determină conținutul în nitrați, nitriți, ioni de amoniu, fosfor asimilabil, potasiu asimilabil, aluminiu mobil, probele de sol trebuie analizate imediat după ce au fost luate de pe teren, pentru a se evita pierderile.

Pentru determinarea sumei bazelor schimbabile, a diferitelor forme ale acidității, a azotului hidrolizabil, a formelor potențiale asimilabile de fosfor și potasiu, analizele se fac mai bine pe probele uscate la aer.

Pentru uscarea la aer probele se pun într-o încăpere închisă, curată și bine aerisită. Fiecare probă de sol se așază pe o foaie de hîrtie groasă

(sau placaj) și se întinde într-un strat de circa 2 cm grosime. Se lasă la uscat 5—10 zile în cazul solurilor ușoare și pînă la 20—25 de zile în cazul solurilor grele, cu conținut ridicat de humus, amestecîndu-se din cînd în cînd. Bulgării mari se sfărîmă cu mîna, iar resturile de rădăcini, insecte și alte impurități se îndepărtează. Uscarea probelor trebuie începută la timp scurt după ridicarea lor din cîmp (1—2 zile). După uscare probele se păstrează în borcane de material plastic, cu capac.

Din probele uscate la aer se ia pentru analiză cantitatea de sol necesară, recurgînd la procedeul „sferturilor". În acest scop solul se amestecă bine, se întinde pe o foaie de hîrtie într-un strat de 1,5—2 cm grosime, de formă pătrată, se nivelează și apoi se recurge la operațiile prezentate în paragraful 1.1.1, repetîndu-le pînă la obținerea unei probe de mărime convenabilă.

2.2.3. REACȚIA SOLULUI

Reacția solului, care are o deosebită importanță în practica agricolă, este dată de raportul existent între ionii de hidrogen (H^+) și cei de oxidril (OH^-) aflați în soluția solului. În funcție de raportul existent între acești ioni, soluția solului poate avea o reacție acidă, neutră sau alcalină, care se exprimă convențional prin valorile de *p*H, ce reprezintă cologaritmul concentrației ionilor de hidrogen. Valorile de *p*H, care sînt exprimate numeric, indică între 1—7 o reacție acidă, între 7—14 o reacție alcalină, iar valoarea 7 corespunde unei reacții neutre.

2.2.3.1. Determinarea pH-ului solului cu indicator universal

Se introduce o cantitate de 3—5 g sol într-o eprubetă, se adaugă o cantitate de apă distilată egală cu de trei ori cantitatea de sol (10—15 ml) pentru solurile obișnuite și cu de două ori cantitatea de sol (6—10 ml) pentru cele bogate în săruri solubile. Se agită puternic conținutul eprubetei timp de circa un minut și se lasă apoi 15 minute în repaus, ca să se limpezească. Dacă soluția nu se limpezește, se filtrează. Din partea limpede (eventual din filtrat) se pipetează 3—5 ml într-o eprubetă curată și se adaugă 1—2 picături de indicator universal. Colorația obținută se compară cu o scală etalon, care însoțește trusa cu indicator. Culoarea corespunzătoare cu cea de pe scala etalon va indica valoarea de *p*H, notată pe scală, a solului analizat.

2.2.3.2. Determinarea pH-ului solului cu salicilat de sodiu

Se introduce într-o eprubetă o cantitate de 3—5 g sol, mărunțit și uscat la temperatura camerei, se adaugă peste el o soluție de salicilat de sodiu 5%, într-o cantitate aproximativ de două ori mai mare decît volumul solului, se astupă eprubeta cu un dop, se agită puternic timp de un minut și apoi se lasă în repaus timp de 15 minute, pînă ce suspensia se limpezește. În cazul cînd solul este mărunțit prea fin, limpezirea poate

TABELUL 2.2

Culoarea salicilatului de sodiu în funcție de *p*H-ul solului

Culoarea soluției de salicilat de sodiu	Reacția mediului	Valoarea *p*H-ului
Roșu închis	Puternic acidă	3,5—4,8
Roșcat	Acidă	4,8—5,5
Roșcat-portocaliu	Moderat acidă	5,5—6,5
Portocaliu pînă la incolor	Slab acidă	6,5—6,8
Incolor	Neutră	6,8—7,2
Incolor pînă la galben	Slab alcalină	7,2—8,0
Galben curat	Moderat alcalină	8,0—8,4
Galben intens	Puternic alcalină	8,4

dura 1—2 ore sau chiar mai mult. Lichidul limpede din eprubetă ia o anumită culoare în raport cu reacția solului. Valoarea *p*H-ului corespunzător acestei culori se citește în tabelul 2.2.

2.2.3.3. Determinarea pH-ului solului cu ajutorul hîrtiei indicator universal

Se pun 10 g de sol (de preferință proaspăt) într-un balon Erlenmeyer de 200 ml, se adaugă peste el 50 ml de apă distilată proaspăt pregătită (sau fiartă și răcită în prealabil dacă este mai veche, deoarece apa utilizată nu trebuie să conțină dioxid de carbon solvit), se astupă balonul cu un dop și se agită conținutul lui timp de 3 minute. Se filtrează apoi suspensia printr-un filtru cantitativ cutat și în extractul apos obținut se introduce un fragment de 1—2 cm din hîrtia indicator universal, care se ține cu o pensă de un capăt. După ce hîrtia indicator universal își schimbă culoarea în contact cu extractul, se scoate din extract și comparînd culoarea ei cu gama de culori etalon anexată la ambalajul hîrtiei, se poate determina valoarea *p*H-ului corespunzător culorii obținute.

2.2.4. DETERMINAREA GRADULUI DE SATURAȚIE CU BAZE A SOLULUI

Coloizii solului, datorită sarcinilor negative pe care le au, pot să rețină prin adsorbție o serie de cationi (H^+, K^+, Na^+, NH_4^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}, Fe^{2+}, Fe^{3+}, Mn^{2+} etc.).

Capacitatea de reținere a cationilor variază de la un sol la altul, în dependență de natura coloizilor, *p*H-ul solului, natura ionilor din soluție și concentrația acestora.

Cationii reținuți prin adsorbție pot fi înlocuiți prin schimb cu alți cationi. Schimbul se face în mod echivalent, adică un cation bivalent poate fi înlocuit tot de un cation cu aceeași valență, sau cu doi cationi monovalenți.

Folosindu-se această însușire de schimb a cationilor din starea adsorbită cu cei din soluția solului, se poate determina totalitatea sarcinilor electrice ale coloizilor solului, însușire numită *capacitate de schimb cationic*. Ea se exprimă în miliechivalenți/100 g sol și se notează cu CSC.

Din totalul cationilor schimbabili dintr-un sol este interesant de cunoscut cantitatea procentuală a cationilor bazici (Ca^{2+}, K^+, Na^+, NH_4^+), care mai poartă denumirea de *grad de saturație cu baze a unui sol*.

Pentru evaluarea gradului de saturație cu baze a unui sol se impune determinarea acidității lui hidrolitice și determinarea sumei bazelor schimbabile a acestuia.

a. *Determinarea acidității hidrolitice.* Aciditatea hidrolitică cuprinde întreaga aciditate ușor schimbabilă și o parte din aciditatea mai greu schimbabilă ce se poate desorbi din sol.

Pentru determinare se cîntăresc 40 g sol, uscat în prealabil la aer și cernut prin sita de 2 mm, se introduce proba într-un balon Erlenmeyer de 250 ml și se adaugă peste el 100 ml soluție de acetat de sodiu 1 n, cu *p*H=8,25. Se închide balonul cu un dop și se agită mecanic suspensia timp de o oră, după care se filtrează prin hîrtie de filtru. La filtrare se îndepărtează primii 10—15 ml de filtrat, care este contaminat cu ioni de hidrogen, iar după filtrarea completă a suspensiei se iau 50 ml de filtrat într-un balon Erlenmeyer, se adaugă în el 3 picături de fenolftaleină 1% (reactivul nr. 21) și se titrează acidul acetic, rezultat din reacția de schimb dintre acetatul de sodiu și sol, cu o soluție de hidroxid de sodiu 0,1 n, pînă la coloratia roz-deschis persistentă.

Aciditatea hidrolitică se exprimă în miliechivalenți la 100 g sol uscat la aer și se calculează cu ajutorul relației:

$$n \cdot f \cdot 0{,}5 \cdot 1{,}75,$$

în care:

n=volumul soluției de NaOH 0,1 n folosit la titrare (în ml);

f=factorul soluției de NaOH 0,1 n;

0,5 și 1,75=coeficienți stabiliți de Kacinski.

b. *Determinarea sumei bazelor schimbabile.* Se cîntăresc 10 g de sol uscat la aer și cernut prin sita de 2 mm și se introduce proba într-un balon Erlenmeyer de 100 ml. Se toarnă peste sol 50 ml de HCl 0,1 n și se agită mecanic conținutul balonului timp de o oră, după care se lasă în repaus 12 ore și se filtrează cantitativ. Din filtrat se iau cu pipeta 25 ml într-un balon Erlenmeyer de 200 ml și se fierbe conținutul balonului pe o plită, timp de 2—3 minute, pentru îndepărtarea dioxidului de carbon din el. Se adaugă 1—2 picături de fenolftaleină 1% (reactivul nr. 21) și se titrează conținutul balonului cu o soluție de NaOH 0,1 n, pînă la apariția culorii slab roz persistentă.

Calculul pentru suma bazelor schimbabile se face cu ajutorul relației:

$$2(V_1 \cdot f_1) — (V_2 \cdot f_2),$$

în care:

2 = coeficient pentru exprimarea rezultatului în miliechivalenți/100 g de sol uscat la aer;

V_1 = volumul de extract preparat cu HCl 0,1 n, luat pentru analiză (în ml);

f_1 = factorul soluției de HCl 0,1 n[1];

V_2 = volumul soluției de NaOH 0,1 n folosit la titrare (în ml);

f_2 = factorul soluției de NaOH 0,1 n[2].

Calculul pentru determinarea gradului de saturație cu baze a solului (V%) se face utilizînd relația:

$$\frac{S_B}{(S_B + A_h)} \cdot 100,$$

în care:

S_B = suma bazelor schimbabile (în miliechivalenți/100 g sol);

A_h = aciditatea hidrolitică (în miliechivalenți/100 g sol);

100 = factor de raportare a rezultatului în procente.

Interpretarea rezultatelor se face pe baza datelor prezentate în tabelul 2.3.

TABELUL 2.3

Date pentru interpretarea rezultatelor referitoare la determinarea gradului de saturație cu baze a solurilor

Gradul de saturație cu baze		
50%	50—75%	75%
Soluri acide și foarte acide (*p*H 4,5)	Soluri slab acide și acide (*p*H între 4,5 și 5,5)	Soluri neutre sau slab acide (*p*H 5,5)
Necesită a fi amendate cu calciu	Necesită numai uneori a fi amendate cu calciu	Nu necesită amendamente cu calciu

2.2.5. EVIDENȚIEREA ELEMENTELOR CHIMICE DIN SOL

Evidențierea elementelor chimice din sol se face cu ajutorul procedeelor și reactivilor menționați pentru punerea în evidență a elementelor chimice din cenușa vegetală. Pentru punerea în evidență a potasiului, sodiului și clorului se pregătește un extract apos și se aplică procedeele descrise în paragrafele 2.1.2.1.1—2.1.2.1.3. Evidențierea elementelor fier, magneziu, aluminiu și calciu se face în extracte cu acid clorhidric conform procedeelor prezentate în paragrafele 2.1.2.2.1—2.1.2.2.4, iar punerea în evidență a manganului și fosforului se face folosind extracte cu acid azotic conform procedeelor descrise în paragrafele 2.1.2.2.7—2.1.2.2.8.

[1] Factorul soluției se află după procedeul descris la p. 169, folosind o soluție de $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$ 0,1 n (19,0725 g/l).

[2] Factorul soluției se află după procedeul prezentat la p. 95.

2.3. ABSORBȚIA SĂRURILOR MINERALE DE CĂTRE PLANTE

Plantele absorb elementele nutriției minerale din sol, aflate în diferite combinații chimice anorganice care disociază, în exclusivitate sub formă de ioni. În acest proces se manifestă o anumită selectivitate, care face ca diferitele specii de ioni să fie absorbite de către sistemul radicular cu viteze ce diferă de la un ion la altul. Absorbția ionilor se face cel mai ușor din substanțele care se află în stare dizolvată în soluția solului, dar plantele dispun și de capacitatea de a solubiliza, prin emisiune de acizi organici la nivelul sistemului radicular, sărurile minerale insolubile sau greu solubile.

2.3.1. EVIDENȚIEREA ABSORBȚIEI IONILOR DE CĂTRE PLANTE

Pentru evidențierea absorbției ionilor se cresc, pornind de la semințe germinate, cîteva plantule de porumb pe apă de conductă, pentru a obține un material experimental cu sistemul radicular intact, fără leziuni. În momentul în care ajung să-și formeze primele frunze, se iau 5 plantule și se introduc într-un cristalizor mic, în care s-au pus în prealabil 10 ml de soluție Knop completă (pregătită după rețeta indicată în tabelul 2.4.), astfel ca rădăcinile lor să fie în contact cu mediul nutritiv pe toată lungimea acestora.

În intervalul de timp în care plantulele stau cu rădăcinile în soluția nutritivă, se determină pe diluțiile succesive ale unei probe de mediu Knop prezența ionilor NO_3^-, PO_4^{3-} și K^+, pentru a stabili pînă la ce diluții pot fi puși în evidență prin reacții de culoare. În acest scop se introduc 6 ml de mediu Knop martor într-o eprubetă uscată și se iau din el cîte 10 picături care se pun în trei sticle de ceas. În prima dintre ele se adaugă o picătură de soluție de difenilamină 1% (reactivul nr. 20), care în prezența anionului NO_3^- colorează soluția în albastru. În a doua sticlă de ceas se adaugă o picătură de molibdat de amoniu 1% (reactivul nr 26) și o picătură dintr-o soluție de $SnCl_2$ 2%, care în prezența anionului PO_4^{3-} dau o colorație de asemenea albastră. În cea de a treia sticlă de ceas se adaugă o picătură de cobaltnitrit de sodiu 10% (reactivul nr. 18) și o picătură dintr-o soluție de HCl 10% (reactivul nr. 7), care dau în prezența cationului K^+ un precipitat de culoare galbenă. După efectuarea evidențierii acestor ioni, se spală sticlele de ceas și se șterg, apoi se iau din eprubetă 3 ml de mediu Knop care se introduc într-o altă eprubetă uscată, se adaugă peste el 3 ml de apă distilată, se agită conținutul eprubetei pentru omogenizare și se repartizează cîte 10 picături din această diluție (diluția nr. 1) în cele trei sticle de ceas, în care se reia evidențierea ionilor urmăriți, după procedeul prezentat anterior. Se repetă apoi aceste operații, diluînd de fiecare dată mediul la jumătate, pînă cînd ionii urmăriți nu mai pot fi puși în evidență și se notează pentru fiecare ion în parte numărul diluției la care nu a mai putut fi evidențiat.

După un interval de timp de trei ore se scot plantele din cristalizor, se trec 6 ml de mediu Knop din cristalizor într-o eprubetă uscată și se evidențiază după procedeul descris ionii de NO_3^-, PO_4^{3-} și K^+, întîi pe mediul scos din cristalizor și apoi pe diluții succesive ale acestuia, notînd pentru fiecare ion în parte numărul diluției în care nu a mai putut fi evi-

denţiat. Întrucît în urma absorbţiei în mediul nutritiv concentraţia ionilor urmăriţi se micşorează, absorbţia fiecărui ion în parte va fi cu atît mai intensă cu cît numărul diluţiei în care nu mai poate fi pus în evidenţă este mai mic, în comparaţie cu diluţia în care nu mai poate fi pus în evidenţă în mediul Knop martor.

2.3.2. ABSORBŢIA SĂRURILOR MINERALE INSOLUBILE DE CĂTRE PLANTE PRIN SISTEMUL RADICULAR

Sistemul radicular al plantelor secretă o serie de acizi organici (acid malic, lactic, citric etc.), care crează o reacţie acidă la suprafaţa rădăcinilor. În afară de acizii organici, la realizarea acestei reacţii contribuie şi acidul carbonic, rezultat din combinarea CO_2 provenit din procesul de respiraţie al rădăcinilor cu apa din sol, conform reacţiei:

$$CO_2 + H_2O \longrightarrow H_2CO_3$$

Cu ajutorul acestor acizi rădăcinile plantelor solubilizează sărurile insolubile din sol, transformîndu-le în compuşi accesibili plantelor.

2.3.2.1. Evidenţierea secreţiei de acizi organici de către rădăcinile plantelor

Secreţia de acizi organici de către sistemul radicular al plantelor poate fi pusă în evidenţă prin următoarele procedee:

a. Se ia o lamă de microscopie, se aşază pe ea o bucată de hîrtie de filtru de aceeaşi mărime, iar pe hîrtia de filtru se pune o fîşie de hîrtie albastră de turnesol şi peste aceasta rădăcinile a 1—2 plantule de grîu, porumb etc. Se înfăşoară apoi lama într-o bucată de celofan, care se fixează la cele două capete cu inele de cauciuc şi se introduce lama astfel pregătită, cu capătul înspre care se găsesc vîrfurile rădăcinilor, într-un pahar Berzelius, în care s-a turnat în prealabil 15—20 ml de apă distilată (fig. 2.12). După 12—24 de ore se constată că hîrtia de turnesol s-a înroşit în dreptul rădăcinilor. Dacă se scot rădăcinile de sub celofan, se observă conturul acestora, imprimat pe hîrtia de turnesol.

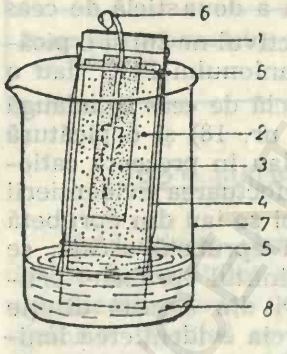


Fig. 2.12. Evidenţierea secreţiei de acizi de către rădăcinile plantelor (după Szalai şi Frenyó):

1 — lamă de sticlă; 2 — hîrtie de filtru; 3 — hîrtie albastră de turnesol; 4 — celofan; 5 — inel de cauciuc; 6 — plantulă; 7 — pahar Berzelius; 8 — apă.

b. Se pregăteşte într-o eprubetă o soluţie alcalină diluată (o soluţie de NaOH sau KOH 0,5—1%), colorată slab în roz cu 1—2 picături dintr-o soluţie de fenolftaleină 1% (reactivul nr. 21) şi se introduc în ea rădăcinile a 2—3 plantule de porumb, după care se aşază eprubeta într-un stativ. După aproximativ 30 de minute se observă decolorarea treptată a soluţiei, începînd cu zona din jurul rădăcinilor, datorită acizilor organici eliminaţi, care modifică reacţia alcalină iniţială a mediului în reacţie slab acidă, în care fenolftaleina este incoloră.

2.3.2.2. Evidențierea fenomenului de coroziune

Pentru evidențierea acestui fenomen se introduce într-un ghiveci nisip calcinat, iar deasupra lui se așază o placă lustruită de marmură, înclinată la un unghi de 45°. Pe suprafața plăcii se pun 2—3 semințe îmbibate în prealabil timp de 24 de ore în apă de conductă și apoi se acoperă complet semințele cu nisip. Umiditatea nisipului se menține tot timpul la aproximativ 60% din capacitatea lui totală de reținere a apei, care se determină în prealabil prin procedeul prezentat în paragraful 1.3.3.8.4., iar volumul de apă necesar pentru menținerea acestei mase de udare se calculează conform procedeului prezentat în paragraful 2.5.2. După aproximativ 2—3 săptămîni de la germinarea semințelor se scoate placa de marmură din ghiveci și se spală. Pe suprafața plăcii se va observa prezența a numeroase urme fine ale rădăcinilor ce au crescut în dreptul ei și au solubilizat, cu ajutorul acizilor secretați, carbonatul de calciu, care este insolubil, conform reacției:

$$CaCO_3 + H_2CO_3 \longrightarrow Ca(HCO_3)_2$$

Fenomenul de coroziune induce solubilizarea și a altor săruri insolubile sau greu solubile (fosfați, silicați etc.), făcîndu-le astfel accesibile plantelor.

2.4. CONDUCEREA IONILOR ȘI DISTRIBUȚIA LOR ÎN CORPUL PLANTELOR

Ionii absorbiți la nivelul sistemului radicular al plantelor sînt conduși în celelalte organe ale acestora, unde sînt utilizați în procesul de metabolism, puși parțial în rezervă sau eliminați într-o oarecare cantitate prin procese de desorbție. Spre deosebire de apă, care în urma absorbției este eliminată în cea mai mare parte prin transpirație, eliminarea ionilor absorbiți se face în cantitate relativ mică.

Etapele conducerii ionilor și căile de conducere ale acestora se suprapun cu etapele și căile de conducere ale apei (v. paragraful 1.4). Evidențierea conducerii ionilor în sens longitudinal se poate face prin procedeele indirecte prezentate în paragraful 1.4.1 a, iar viteza de conducere a ionilor se poate determina prin experimentul prezentat în paragraful 1.4.2.

Distribuția unora dintre elementele absolut necesare (azot, fosfor și potasiu) în corpul plantelor poate fi urmărită prin procedeele descrise în paragrafele 2.1.5.1—2.1.5.3, determinînd cantitativ prezența lor în diferitele organe.

Eliminarea ionilor absorbiți poate fi pusă în evidență prin evaporarea apei de gutație, conform procedeului prezentat în paragraful 1.5.2.1.

2.5. TEHNICI DE CULTIVARE A PLANTELOR ÎN CONDIȚII DE LABORATOR

Efectuarea unor cercetări în domeniul fiziologiei plantelor, biochimiei etc., impune existența materialelor vegetale necesare studiilor în tot cursul anului, indiferent de sezon, care în unele perioade este nefavo-

rabil pentru realizarea unor culturi de plante în condiții de cîmp. Dezideratul este realizabil prin utilizarea tehnicilor de cultivare a plantelor în condiții de laborator sau de casă de vegetație, pe soluții minerale nutritive sau pe substrat solid, căruia i se administrează elementele minerale nutritive necesare plantelor.

2.5.1. TEHNICA CULTIVĂRII PLANTELOR SUPERIOARE PE SOLUȚII MINERALE NUTRITIVE

Principiul procedeului. Cultivarea plantelor superioare se efectuează în vase de sticlă de formă cilindrică, sau în borcane cu gîtul larg, umplute cu soluții nutritive care conțin, în cantități și raporturi optime, ionii tuturor elementelor minerale absolut necesare plantelor fotoautotrofe, ioni pe care aceste plante îi absorb din mediul nutritiv prin intermediul sistemului radicular. Vasele de cultură se acoperă cu capace confecționate din lemn, plută, plăci de material plastic, carton sau tifon, toate parafinate și prevăzute cu unu sau mai multe orificii în care se fixează plantele astfel încît sistemul lor radicular să ajungă în soluția nutritivă (fig. 2.13).

Modul de lucru. Pentru cultivarea plantelor pe soluții minerale nutritive se efectuează următoarele operații preliminare:

a. *Pregătirea vaselor de cultură.* Se utilizează borcane de sticlă de 1—3 l, care se spală bine, se clătesc cu apă distilată și se usucă. După uscare borcanele se parafinează la interior. Pentru efectuarea acestei operații se topește într-un vas parafină pe baia de apă și se toarnă 20—30 ml de parafină topită în vasele de cultură. Aceste vase se rotesc, imediat după turnarea parafinei în ele, de 1—2 ori în poziție orizontală, în așa fel încît întreaga lor suprafață internă să fie acoperită cu un strat subțire (de 0,5—1 mm) de parafină. Prin parafinarea vaselor se evită difuziunea unor ioni din pereții de sticlă ai acestora în soluția nutritivă. După parafinare vasele se înfășoară bine cu hîrtie neagră, care se lipește cu atenție în așa fel încît să nu rămînă porțiuni neacoperite, iar peste aceasta se aplică un strat de hîrtie albă, care se fixează strîns, prin legare. Prin acoperirea vaselor cu hîrtie neagră se crează posibilitatea ca rădăcinile plantelor să crească la întuneric, deci în condiții identice din acest punct de vedere cu cele din natură și se împiedică eventuala dezvoltare a algelor în mediul de cultură. Hîrtia albă reflectă lumina, deci împiedică încălzirea excesivă a soluției nutritive, care este dăunătoare pentru plante întrucît inhibă absorbția ionilor de către sistemul radicular.

b. *Pregătirea capacelor cu care se acoperă vasele de cultură.* Capacele vaselor pot fi confecționate din tifon, carton, plută, lemn sau plăci de material plastic. Ele servesc la acoperirea soluției nutritive din vase, deci trebuie să fie etanșe, opace, pentru a împiedica pătrunderea luminii în mediul nutritiv și suficient de solide pentru ca să poată susține plantele.

În cazul cînd se confecționează din lemn, ele trebuie să aibă grosimea de 0,5—1 cm și, privite de sus, forma unui patrat cu latura cu circa 1—2 cm mai mare decît diametrul exterior al gîtului vaselor de cultură (fig. 2.13 b). În capace se fac două orificii în care se introduc două tuburi de sticlă, cu diametrul de 0,5 cm, care se etanșează pentru a sta imobilizate în capace. Extremitatea inferioară a unuia dintre aceste tu-

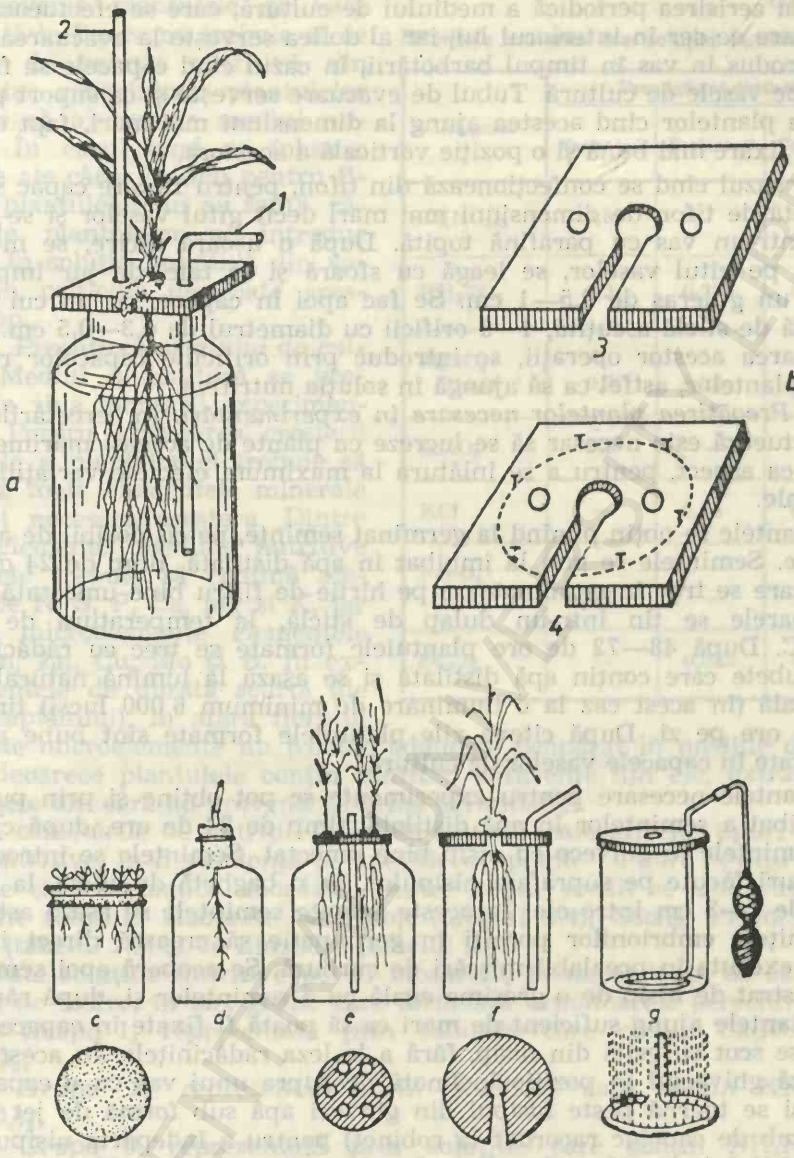


Fig. 2.13. Diferite tipuri de vase de cultură:

a — vas cu capac de lemn, prevăzut cu tub pentru aerarea mediului de cultură (1) și tub pentru evacuarea aerului și susținerea plantelor (2); b — capacul vasului, văzut de sus (3) și dinspre partea inferioară (4); linia circulară, în lungul căreia se bat cuiele, reprezintă marginea externă a gîtului vasului; c — vas acoperit cu capac de tifon parafinat; d — vas cu dop de vată; e și f — vase cu capace de lemn; g — sistemul de barbotare al vaselor e și f.

buri ajunge pînă aproape de fundul vasului, iar celălalt tub se fixează în capac astfel ca extremitatea lui inferioară să se găsească deasupra nivelului mediului de cultură din vas, iar capătul lui superior să depășească cu circa 30—40 cm suprafața capacului. Primul dintre aceste tuburi ser-

vește la aerisirea periodică a mediului de cultură, care se efectuează prin barbotare de aer în interiorul lui, iar al doilea servește la evacuarea aerului introdus în vas în timpul barbotării, în cazul cînd capacele se fixează etanș pe vasele de cultură. Tubul de evacuare servește și ca suport pentru legarea plantelor cînd acestea ajung la dimensiuni mai mari, fapt ce asigură o fixare mai bună și o poziție verticală a acestora.

În cazul cînd se confecționează din tifon, pentru fiecare capac se taie o bucată de tifon de dimensiuni mai mari decît gîtul vaselor și se introduce într-un vas cu parafină topită. După o ușoară răcire, se mulează tifonul pe gîtul vaselor, se leagă cu sfoară și se taie, de jur împrejur, lăsînd un guleraș de 0,5—1 cm. Se fac apoi în capace, cu un cui sau o baghetă de sticlă ascuțită, 4—6 orificii cu diametrul de 0,3—0,5 cm. După terminarea acestor operații, se introduc prin orificiile capacelor rădăcinițele plantelor, astfel ca să ajungă în soluția nutritivă.

c. *Pregătirea plantelor necesare în experimentări.* În cercetările care se efectuează este necesar să se lucreze cu plante de aceeași mărime, uniforme ca aspect, pentru a se înlătura la maximum efectele variațiilor individuale.

Plantele se obțin punînd la germinat semințe, pe cît posibil de aceeași mărime. Semințele se pun la îmbibat în apă distilată, timp de 24 de ore, după care se trec în germinatoare pe hîrtie de filtru bine umectată. Germinatoarele se țin într-un dulap de sticlă, la temperatura de circa 20±5°C. După 48—72 de ore plantulele formate se trec cu rădăcinițele în eprubete care conțin apă distilată și se așază la lumină naturală sau artificială (în acest caz la o iluminare de minimum 6 000 lucși) timp de 12—14 ore pe zi. După cîteva zile plantulele formate sînt bune pentru a fi fixate în capacele vaselor de cultură.

Plantele necesare pentru experimente se pot obține și prin punerea la imbibat a semințelor în apă distilată, timp de 24 de ore, după care se trec semințele în ghivece cu nisip bine umectat. Semințele se introduc în adînciturі făcute pe suprafața nisipului, cu o baghetă de sticlă, la o distanță de 2—3 cm între ele. În aceste gropițe semințele se așază astfel ca rădăcinițele embrionilor porniți în germinație să crească direct în jos, fără a executa în prealabil mișcări de curbură. Se acoperă apoi semințele cu un strat de nisip de o grosime egală cu a semințelor și, după răsărire, cînd plantele ajung suficient de mari ca să poată fi fixate în capacele vaselor, se scot cu grijă din nisip, fără a le leza rădăcinițele. În acest scop, se așază ghiveciul în poziție înclinată deasupra unui vas cu o capacitate mare și se toarnă peste nisipul din ghiveci apă sub formă de jet (printr-un tub de cauciuc racordat la robinet) pentru a îndepărta nisipul din jurul rădăcinițelor plantelor. Pe măsură ce plantele sînt eliberate, ele se așază într-un vas (pahar Berzelius) cu rădăcinile în apă, pentru a îndepărta urmele de nisip de pe rădăcinițele lor și pentru a împiedica uscarea sistemului lor radicular. Se aleg apoi plantulele care au un aspect și o mărime cît mai uniforme și se fixează în capacele vaselor, după ce în prealabil acestea au fost umplute cu soluție nutritivă.

Fixarea plantelor în capace trebuie făcută astfel încît să permită creșterea lor în grosime. În cazul utilizării capacelor confecționate din lemn (fig. 2.13 b), se înfășoară în vată plantulele la nivelul porțiunii bazale a tulpinii și se fixează în orificiul central al capacelor, glisînd porțiunea înfășurată prin fanta acestora, după care se astupă cu vată și fanta capacelor, pe toată lungimea ei. Resturile semințelor (cariopselor) din care

au provenit plantulele și vata utilizată la fixare nu trebuie să se atingă de soluția nutritivă din vase, iar rădăcinițele plantulelor trebuie să ajungă în mediul nutritiv. În cazul cînd se folosesc capace ale căror orificii pentru fixarea plantulelor nu au fantă, rădăcinile plantulelor se introduc direct în soluția nutritivă din vase prin orificiile destinate acestui scop.

d. *Pregătirea mediului de cultură.* Mediul de cultură se prepară în ziua montării experimentului. Pentru asigurarea creșterii normale a plantelor el trebuie să conțină toate elementele minerale absolut necesare acestora. Dintre macroelemente mediile nutritive complete trebuie să conțină elementele N, S, P, Ca, Mg și K, iar dintre microelemente elementele Fe, Mn, Zn, Cu, Mo și B. În experimentele de durată scurtă (de 1—2 săptămîni), în afara fierului celelalte microelemente nu trebuie adăugate neapărat în mediile de cultură, deoarece plantulele conțin cantități suficiente din ele, extrase din semințele din care au provenit în urma germinației.

TABELUL 2.4

Diferitele variante ale soluției nutritive Knop

Compusul	Doza (g/l apă distilată)		
	Varianta 1	Varianta 2	Varianta 3
$Ca(NO_3)_2$	0,8	1,0	1,0
KH_2PO_4	0,2	0,25	0,25
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,2	0,25	0,25
KNO_3	0,2	—	—
KCl	—	0,25	0,125
$FePO_4 \cdot 2H_2O$	0,1	—	—
Fe_2Cl_6	—	0,025	0,0125

În cercetările de nutriție minerală sînt utilizate diferite tipuri de soluții nutritive, în dependență de speciile de plante cu care se întreprind studiile și de tematica abordată. Dintre aceste medii se utilizează mai frecvent soluțiile elaborate de Knop (tabelul 2.4), Sachs, Prianișnikov, Crone (tabelul 2.5) și de Zinzadze (tabelul 2.6).

Toate soluțiile nutritive pot fi incadrate, în dependență de sursa de azot și de fosfor, în trei grupe care formează următoarele perechi:

— Grupa 1, reprezentată prin soluțiile care conțin $Ca(NO_3)_2$ și KH_2PO_4;

— Grupa 2, reprezentată prin soluțiile care conțin KNO_3 și $Fe_3(PO_4)_2$;

— Grupa 3, reprezentată prin soluțiile care conțin NH_4NO_3 și $CaHPO_4$ sau $Ca_3(PO_4)_2$.

În prima grupă perechile de substanțe sînt caracterizate prin aceea că o sare fiziologic acidă — KH_2PO_4 este cuplată în soluție cu o sare fiziologic bazică — $Ca(NO_3)_2$. Reacția unei astfel de soluții este ușor alcalină.

În grupa a doua de soluții azotul se administrează sub formă de KNO_3, care este o sare ușor bazică, iar sursa de fosfor o constituie o sare greu solubilă — $Fe_2(PO_4)_2$.

Din grupa a treia fac parte soluțiile nutritive în care sursa de azot o reprezintă NH_4NO_3 (sare ușor acidă, din punct de vedere fiziologic), iar sursa de fosfor este reprezentată prin $CaHPO_4$ sau $Ca_3(PO_4)_2$,care reduc considerabil aciditatea soluțiilor nutritive.

TABELUL 2.5

Rețetele soluțiilor nutritive elaborate de Sachs, Prianișnikov și Crone

Soluția Sachs		Soluția Prianișnikov		Soluția Crone	
Compusul	Doza (g/l)	Compusul	Doza (g/l)	Compusul	Doza (g/l)
KNO_3	1,0	NH_4NO_3	0,24	KNO_3	1,0
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,5	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,06	$Fe_3(PO_4)_2$	0,25
$Ca_3(PO_4)_2$	0,5	KCl	0,15	$Ca_3(PO_4)_2$	0,25
NaCl	0,25	$CaSO_4 \cdot 2H_2O$	0,334	$CaSO_4 \cdot 2H_2O$	0,5
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	urme	$CaHPO_4 \cdot 2H_2O$	0,172	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,5
—	—	$FeCl_3$	0,025	—	—

TABELUL 2.6

Rețetele soluțiilor nutritive Zinzadze cu valori diferite ale *p*H-ului

Compusul	Doza (g/litru apă distilată)			
	*p*H=4,0	*p*H=5,0	*p*H=5,5—6,5	*p*H=7,3
NH_4NO_3	0,33	0,33	0,20	—
$MgSO_4$	0,50	0,50	0,50	0,50
$CaSO_4 \cdot 2H_2O$	1,46	0,50	—	0,28
KCl	0,61	0,61	0,36	—
KNO_3	0,17	0,17	0,51	0,80
$Fe_2(SO_4)_3$	0,04	0,25	0,32	0,25
$FePO_4 \cdot 2H_2O$	0,68	—	—	—
$Ca_3(PO_4)_2$	—	0,70	0,50	0,70
$Ca(NO_3)_2$	—	—	—	0,21
KOH	—	—	—	0,17

La prepararea acestor soluții (numite în accepțiunea actuală și soluții de bază întrucît, cu excepția fierului, nu conțin microelemente[1]) se folosesc baloane cotate cu capacitatea de 1 litru, umplute pe jumătate cu apă distilată în care se dizolvă substanțele indicate în rețetă în următoarea ordine: întîi substanțele care conțin K, apoi cele care conțin Mg, după aceea substanțele care conțin Ca și la urmă cele care conțin Fe, pentru a împiedica precipitarea lor.

Pentru a obține soluții complete, în apa distilată utilizată la prepararea lor trebuie să se introducă și microelementele, sub forma următoarelor combinații chimice: borul sub formă de H_3BO_3, manganul sub formă de $KMnO_4$, cuprul sub formă de $CuSO_4$, zincul sub formă de $ZnSO_4$, iar molibdenul sub formă de H_2MoO_4. Concentrațiile în care se administrează aceste microelemente în soluțiile nutritive sînt prezentate în tabelul 2.7.

TABELUL 2.7

Concentrația microelementelor în soluțiile nutritive

Microelementul	Bor[1]	Mangan	Cupru	Zinc	Molibden
Concentrația (mg/litru)	0,1—1,0	0,1—1,0	0,01—0,05	0,02—0,1	0,01—0,1

[1] Unele plante (floarea soarelui, bumbacul, sfecla) necesită concentrații mai mari de bor (1—3 mg/l).

Pentru realizarea în soluțiile nutritive a concentrației dorite în fiecare microelement, în limitele indicate în tabelul 2.7, se prepară din fiecare substanță soluții stoc, cu concentrația calculată astfel ca să conțină 1 mg de microelement într-un mililitru. În acest scop se caută în tabelul 1 din anexă masa moleculară a substanței care conține microelementul luat în considerare, iar în tabelul 2 masa atomică a microelementului respectiv și se calculează, prin regula de trei simplă, concentrația soluției stoc ce urmează să fie preparată.

Exemplificare. În cazul microelementului cupru se utilizează $CuSO_4$, care are masa moleculară 159,61. Știind că masa atomică a cuprului este de 63,57, se recurge la următorul raționament:

Dacă 63,57 g Cu se găsesc în 159,61 g $CuSO_4$
Atunci 0,001 g Cu se vor găsi în x g $CuSO_4$

De unde $x = \frac{159{,}61 \cdot 0{,}001}{63{,}57} = 0{,}0023$ g $CuSO_4$

Rezultă că trebuie să se prepare o soluție stoc de $CuSO_4$ cu concentrația de 0,23%, pentru a realiza dezideratul ca fiecare mililitru din ea să conțină 0,001 g (1 mg) de cupru.

[1] În perioada cînd au fost elaborate rețetele acestor soluții nitritive nu se cunoștea faptul că plantele au nevoie și de o serie de microelemente, iar fierul era considerat macroelement. Rolul microelementelor a fost pus în evidență ulterior, pe baza progreselor realizate de industria chimică în purificarea reactivilor. Pînă atunci microelementele erau introduse în soluțiile nutritive involuntar, odată cu sărurile administrate pentru macroelemente, săruri care nu erau suficient de pure.

După dizolvarea macroelementelor în apa distilată, în cantitățile indicate în rețeta soluției nutritive alese, se adaugă în această soluție de bază cîte 1 ml din soluțiile stoc de microelemente și apoi se completează cu apă distilată pînă la semn (1 000 ml), obținîndu-se astfel soluția nutritivă completă.

Măsuri pentru întreținerea culturii. În timpul perioadei de cultură este necesar să se asigure plantelor condiții favorabile de iluminare, temperatură, aerare și de nutriție minerală prin:

a. Așezarea vaselor de cultură la o iluminare convenabilă și uniformă pentru toate plantele. În cazul cînd vasele de cultură se așază pe mai multe rînduri, asigurarea unei iluminări uniforme a plantelor se face prin mutarea zilnică a rîndurilor de vase și a vaselor din fiecare rînd conform procedeului prezentat în figura 2.14. În cazul folosirii iluminării artificiale, aceasta trebuie să aibă o intensitate de minimum 6 000 de lucși, iar durata iluminării trebuie să fie de 12—14 ore zilnic. Asigurarea iluminării uniforme a plantelor se realizează și în acest caz prin mutarea vaselor de cultură după procedeul menționat anterior.

b. Menținerea vaselor de cultură la o temperatură convenabilă, întrucît atît temperaturile ridicate cît și cele scăzute frînează creșterea plantelor.

c. Aerisirea bună a încăperii în care se realizează cultura și evitarea arderii în interiorul acesteia a oricărui combustibil. În afară de aerisirea încăperii este necesară și aerisirea periodică a mediului de cultură, pentru a pune la dispoziția sistemului radicular al plantelor oxigenul de care are nevoie și pentru a îndepărta din mediul de cultură dioxidul de carbon ce se acumulează în el, sub formă dizolvată, în urma respirației rădăcinilor. Soluțiile nutritive din vase vor fi barbotate cu aer la intervale de 3—4 zile, timp de cîte 2—3 ore, folosind în acest scop pompe vibratoare de acvariu, care se racordează la tubul de aerare din capacele vaselor de cultură. De asemenea, în afară de aerarea mediului de cultură, pentru asigurarea unor condiții optime de nutriție minerală plantelor, se verifică săptămînal *p*H-ul mediilor nutritive și dacă este cazul se corectează.

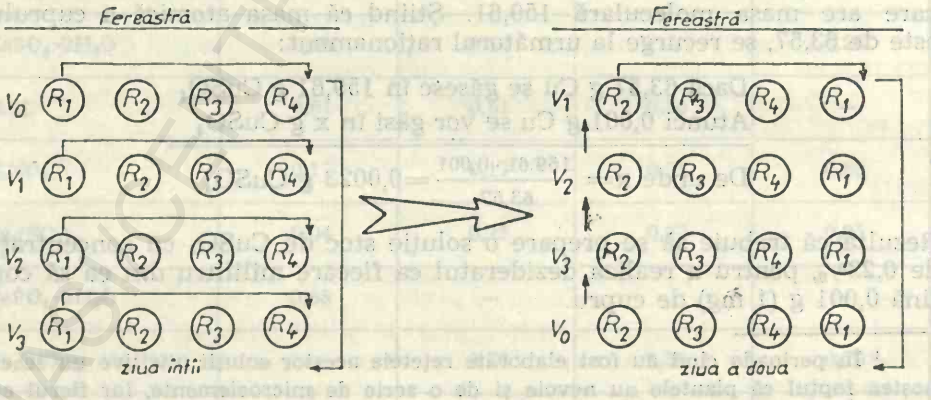


Fig. 2.14. Reprezentarea schematică a modului de mutare a vaselor de cultură pentru asigurarea iluminării uniforme a plantelor. Cercurile reprezintă vasele de cultură văzute de sus, iar notările din interiorul lor indică numărul repetiției din cadrul fiecărei variante (V_0—V_3). Săgețile arată direcția după care se schimbă zilnic poziția rîndurilor de vase și a vaselor din fiecare rînd.

d. Înlocuirea periodică a mediului de cultură din vase cu mediu proaspăt pregătit, deoarece concentrația sa inițială suferă modificări în urma absorbției selective a ionilor de către rădăcini. Mediul folosit la înlocuire trebuie să aibă temperatura încăperii în care se găsesc vasele de cultură, pentru a nu produce, prin șocuri de temperatură, dereglări în funcționarea sistemului radicular al plantelor. Pe parcursul perioadei dintre schimbarea mediului nutritiv trebuie evitată scăderea nivelului mediului nutritiv din vasele de cultură, în urma absorbției de apă de către rădăcinile plantelor, prin controlarea zilnică a acestuia și adăugare de apă distilată ori de cîte ori este necesar.

2.5.2. TEHNICA DE CULTIVARE A PLANTELOR SUPERIOARE ÎN VASE DE VEGETAȚIE PE NISIP

Cultivarea plantelor necesare pentru cercetări, pe o perioadă mai îndelungată de timp, se poate face și în vase de vegetație, care se umplu cu nisip de cuarț în care se administrează elementele nutritive absolut necesare plantelor respective. În timpul culturii nisipul trebuie să fie menținut la un nivel constant de umiditate, în funcție de cerințele plantelor utilizate în experimentări. La cereale și la plantele cu tuberculi umiditatea nisipului trebuie să fie de 60—70% din capacitatea lui pentru apă în cîmp, la plantele furajere și perene de 60—80%, iar la celelalte plante de 50—70%.

Modul de lucru. Cultivarea plantelor superioare în vase de vegetație pe nisip reclamă efectuarea următoarelor operații preliminare:

a. *Pregătirea vaselor de vegetație.* Se pot utiliza vase de vegetație de tip Mitscherlich, cu o capacitate de 10—20 kg, sau ghivece în care să se poată introduce 2—3 kg de nisip uscat la aer, astfel ca suprafața lui să ajungă pînă la o distanță de 1,5—2 cm de marginea lor. În cazul cînd se folosesc ghivece, toate trebuie să fie de același format, mărime și fără orificiu. După alegerea ghivecelor, acestea se spală bine și după uscare se parafinează pe dinăuntru (conform procedeului prezentat în paragraful 2.5.1 pentru pregătirea vaselor de cultură), iar pe dinafară se vopsesc cu vopsea albă. Parafinarea se face pentru a le face impermeabile pentru apă, iar vopsirea pe dinafară are rolul de a reflecta lumina și de a împiedica astfel încălzirea excesivă a nisipului din ele în timpul cultivării plantelor. După uscarea vopselei ghivecele se numerotează de la 1 la n cu vopsea neagră.

Vasele de tip Mitscherlich (fig. 2.15) nu necesită aceste operații de pregătire întrucît sînt confecționate din tablă emailată, de culoare albă. Ele trebuie doar spălate și numerotate cu vopsea neagră.

b. *Pregătirea nisipului.* Se utilizează nisip de cuarț, cît mai pur, cu o structură fizică satisfăcătoare, cernut printr-o sită cu diametrul ochiurilor de 0,5—0,8 mm. După ce a fost cernut, nisipul se spală bine cu apă pentru a îndepărta din el, pe cît posibil, cantitățile mici de săruri (de Al, Fe, Ca, Mg etc.) pe care le conține și după spălare se întinde în strat subțire la soare, lăsîndu-l așa pînă ajunge la starea de uscat la aer. După uscare i se determină capacitatea pentru apă în cîmp, conform procedeului simplificat descris în paragraful 1.3.3.8.3.

c. *Umplerea vaselor de vegetație cu nisip și stabilirea masei de udare.* În acest scop se cîntăresc toate vasele de vegetație (sau ghivecele),

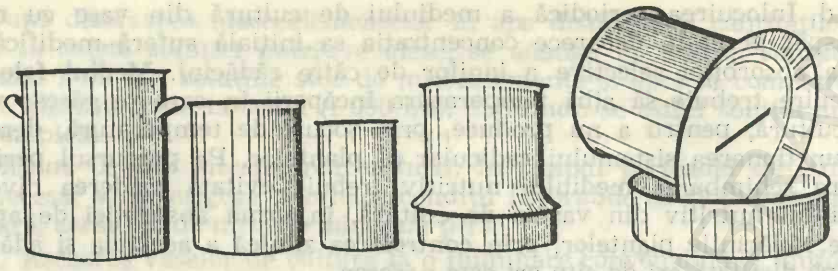


Fig. 2.15. Diferite tipuri de vase Mitscherlich (cele două din dreapta posedă vas anexă).

notînd masa lor într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 2.8[1]. După stabilirea masei vaselor de vegetație goale, se ia cel mai greu dintre ele și i se mărește masa pînă la o valoare convenabilă (rotunjită), prin adăugarea în el a unei cantități corespunzătoare de pietriș bine spălat și uscat[2]. Se așază apoi, pe rînd, toate vasele de vegetație pe cîntar și se adaugă în ele pietriș pînă se aduc la masa primului. În continuare se umplu vasele de vegetație cu nisip, așezîndu-le pe cîntar și avînd grije ca în toate să se introducă aceeași cantitate și ca suprafața nisipului din ele să ajungă la circa 1,5—2 cm de marginea lor. Toate datele referitoare la aceste operații se trec în tabelul întocmit după modelul prezentat în tabelul 2.8.

TABELUL 2.8

Stabilirea masei de udare a vaselor de vegetație

Nr. vasului	Masa vasului gol (kg)	Masa vasului cu pietriș (kg)	Masa nisipului din vas (kg)	Masa vasului umplut cu nisip (kg)	Masa apei de udare (kg)	Masa de udare (kg)

Cunoscînd cantitatea de nisip din vasele de vegetație și umiditatea la care va trebui menținut nisipul din ele în timpul cultivării plantelor, se calculează cantitatea de apă care va trebui adăugată în fiecare vas de vegetație. Aceasta se calculează după formula:

$$\frac{C \cdot N}{100},$$

în care:

C= capacitatea pentru apă în cîmp a nisipului;

N= procentul din capacitatea pentru apă în cîmp la care se va menține umiditatea nisipului;

100=cantitatea de nisip (în grame) la care se referă rezultatul.

---

[1] Înainte de efectuarea cîntăririlor, orificiul de pe fundul vaselor de vegetație Mitscherlich se acoperă cu o sticlă de ceas, iar vasele se cîntăresc împreună cu vasul lor anexă.

[2] De exemplu, în cazul cînd se folosesc ghivece, dacă masa celui mai greu dintre ghivece a fost de 0,876 kg, el se aduce la o masă de 0,900 kg, pentru a ușura, prin simplificare, cîntăririle necesare în vederea menținerii masei de udare a ghivecelor.

Rezultatul obținut reprezintă cantitatea de apă care trebuie adăugată la fiecare 100 g de nisip uscat la aer din vasele de vegetație. Pentru a calcula cantitatea de apă ce trebuie adăugată în fiecare vas de vegetație, se înmulțește acest rezultat cu valoarea raportului:

$$\frac{G}{100},$$

în care:

G=cantitatea de nisip uscat la aer, existentă în vasele de vegetație (în grame);

100=cantitatea de nisip (în grame) pentru care s-a stabilit cantitatea de apă ce trebuie adăugată pentru a menține umiditatea lui la valoarea stabilită.

Valoarea obținută, adăugată la masa vaselor de vegetație umplute cu nisip, va reprezenta masa de udare, care în acest fel va fi egală pentru toate vasele de vegetație. Această valoare și masa de udare se trec, de asemenea, în tabelul întocmit după modelul prezentat în tabelul 2.8.

d. *Pregătirea amestecurilor nutritive.* După umplerea vaselor de vegetației cu nisip și calcularea masei de udare, se administrează în ele substanțele nutritive necesare plantelor ce vor fi cultivate. Acestea se pot administra în stare uscată, sau sub formă dizolvată în apă.

În cazul administrării substanțelor în stare uscată, se iau următoarele cantități de săruri (în grame la 1 kg de nisip uscat la aer):

$Ca(NO_3)_2$	0,492
KH_2PO_4	0,136
$MgSO_4$	0,060
KCl	0,075
Fe_2Cl_6	0,025

După cîntărire se pun sărurile pe suprafața nisipului din fiecare vas de vegetație și se amestecă bine cu nisipul din el, cu ajutorul unei linguri de lemn sau din material plastic, pînă li se asigură o repartizare uniformă în substrat.

Dacă sărurile se administrează sub formă dizolvată, se recomandă, pentru ușurarea operațiilor, pregătirea din fiecare substanță a unei soluții stoc, cu concentrația de 1%. Din aceste soluții se vor administra (în ml la 1 kg de nisip uscat la aer) următoarele cantități:

$Ca(NO_3)_2$	49,2
KH_2PO_4	13,6
$MgSO_4$	6,0
KCl	7,5
Fe_2Cl_6	2,5

Microelementele vor fi administrate în conformitate cu indicațiile date în paragraful 2.5.1 d.

e. *Însămînțarea nisipului din vasele de vegetație.* În dependență de mărimea vaselor de vegetație (sau a ghivecelor), se seamănă în ele 2—3 semințe în cazul plantelor cu talie mai mare, sau un număr mai mare de semințe în cazul celor cu talie mică. Semințele se introduc în adînciturі (de 3—4 cm) făcute în nisipul din vase cu o baghetă de sticlă, se acoperă cu nisip și apoi se udă nisipul conform calculelor efectuate,

astfel ca umiditatea lui să fie egală cu valoarea stabilită din capacitatea lui pentru apă în cîmp. Această masă de udare trebuie restabilită zilnic prin aşezarea vaselor de vegetaţie (ghivecelor) pe cîntar şi adăugarea în ele a cantităţilor corespunzătoare de apă.[1]

Măsuri pentru întreţinerea culturii. Pe parcursul culturii trebuie respectate măsurile menţionate pentru întreţinerea plantelor cultivate pe soluţii minerale nutritive (v. paragraful 2.5.1), cu excepţia celor referitoare la aerarea şi schimbarea periodică a mediului de cultură.

2.5.3. TEHNICA DE CULTIVARE A ALGELOR VERZI UNICELULARE ÎN CONDIŢII DE LABORATOR

Algele verzi unicelulare, îndeosebi reprezentanţii genurilor *Chlorella* şi *Scenedesmus*, reprezintă un material biologic deosebit de util în cercetările de fiziologie vegetală, prin faptul că:

— au capacitatea de a se înmulţi foarte repede, constituind un material de experimentare care poate fi asigurat în cantităţi suficiente în laboratoare în tot cursul anului;

— numărul mare în care se găsesc, în urma cultivării, în unitatea de volum de suspensie (pînă la milioane de celule/ml) duce la eliminarea în întregime a efectelor variaţiilor individuale, ceea ce este foarte important în cercetări.

Cultivarea algelor unicelulare reclamă asigurarea unor condiţii favorabile de iluminare, aprovizionare cu CO_2 necesar ca sursă de carbon în fotosinteză şi de regim de nutriţie minerală.

Un procedeu simplu de cultură constă în cultivarea acestor organisme în unul sau mai mulţi cilindri de sticlă, cu capacitatea de 0,5—2 litri (în funcţie de cantitatea de material biologic necesar în experimentări) umpluţi cu mediu de cultură pînă la 3/4 din înălţimea lor. Mediile de cultură trebuie să conţină toate elementele minerale necesare acestor organisme. Mediul de cultură se însămînţează cu un volum mic (de 1—5 ml din suspensia utilizată pentru inoculare, în funcţie de densitatea numerică a algelor din unitatea de volum a acestei suspensii), utilizînd o suspensie dintr-o cultură pură de alge verzi unicelulare. După însămînţare, cilindrii se astupă cu dopuri de cauciuc străbătute de două tuburi de sticlă: unul lung, care ajunge pînă aproape de fundul lor şi unul scurt, a cărui extremitate inferioară se găseşte deasupra nivelului mediului de cultură. Este recomandabil ca extremitatea superioară a acestor tuburi să fie astupată cu puţină vată, pentru a împiedica pătrunderea unor impurităţi în suspensia algală. Tubul lung serveşte pentru barbotarea de aer în mediul de cultură, iar cel scurt la evacuarea aerului introdus în cilindri în timpul barbotării. Sursa de aer necesar pentru barbotare se asigură cu ajutorul unui vibrator de acvariu, care este conectat printr-un sistem de distribuţie la tuburile lungi din dopul cilindrilor de sticlă (fig. 2.16). Prin barbotare se asigură aprovizionarea algelor cu CO_2 care le este necesar în fotosinteză şi totodată o iluminare

[1] În cazul vaselor de vegetaţie Mitscherlich care posedă vase anexă, înainte de aşezarea lor pe cîntar se toarnă apa ajunsă în vasul anexă peste nisipul din vasul propriu-zis, se reaşază vasul propriu-zis peste vasul anexă şi apoi se aşază întregul ansamblu pe cîntar pentru restabilirea masei lui de udare.

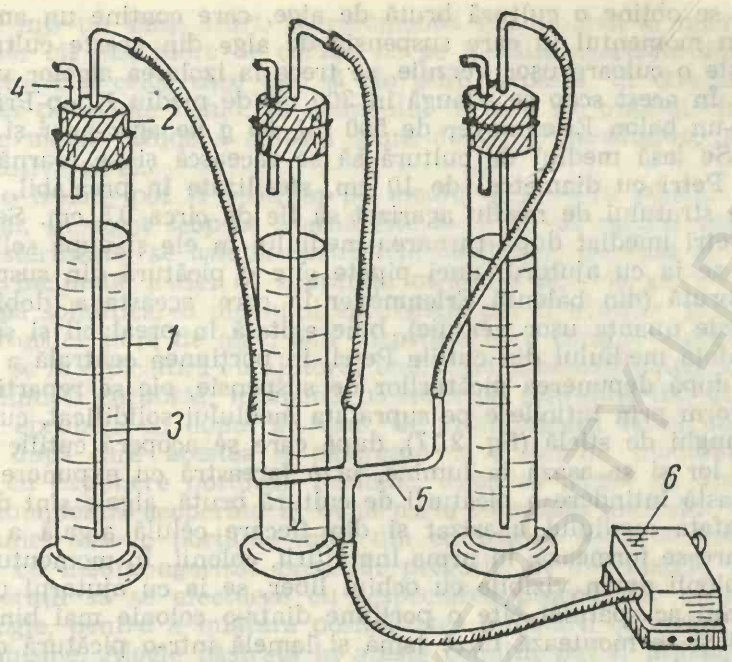


Fig. 2.16. Instalație pentru cultivarea algelor unicelulare:
1 — cilindri de sticlă; 2 — dopuri de cauciuc; 3 — tuburi lungi pentru barbotarea aerului în mediul de cultură; 4 — tuburi pentru evacuarea aerului introdus la barbotare; 5 — pieptene de distribuție a aerului; 6 — vibrator de acvariu.

uniformă a celulelor algale, întrucît agitarea mediului împiedică sedimentarea lor. Este recomandabil ca barbotarea să fie continuă. Pentru asigurarea luminii necesare algelor, vasele de cultură se țin la lumina naturală, la o fereastră, sau, dacă este posibil, la lumina unei baterii de tuburi fluorescente care să asigure o iluminare de 6 000—10 000 lucşi, iluminarea putînd fi şi continuă. Periodic, după ce suspensia de alge ajunge la o densitate mare, caracterizată printr-o culoare de un verde intens, se golesc vasele de cultură. Suspensia obținută se utilizează în cercetări, iar în vasele de cultură se introduce mediu proaspăt pregătit şi se reia cultura pentru a asigura în permanență algele necesare în experimentări. Mediul nou introdus nu trebuie însămînțat, întrucît pe pereții vaselor de cultură rămîn alge suficiente în urma golirii lor de suspensia produsă în cultura precedentă.

În cazul cînd nu se dispune de tulpini de colecție pentru realizarea acestor culturi, se recurge la izolarea unor specii de alge verzi unicelulare din mediul acvatic. În acest scop se prepară un litru de mediu de cultură Knop-Pringsheim, a cărui compoziție este prezentată în tabelul 2.12. Din mediul preparat se repartizează cîte 25 ml în trei baloane Erlenmeyer cu capacitatea de 100 ml şi se adaugă în ele cîte un mililitru de apă colectată dintr-un ecosistem acvatic (lac, baltă). Se astupă baloanele cu dopuri de vată şi se aşază la lumină, la o fereastră cu expunere nordică pentru a fi ferite de razele soarelui. Se agită zilnic conținutul baloanelor pentru a împiedica, pe cît posibil, sedimentarea algelor care încep să se înmulțească în mediul de cultură. În urma înmulțirii

acestora se obține o cultură brută de alge, care conține un amestec de specii. În momentul în care suspensia de alge din aceste culturi brute dobîndește o culoare ușor verzuie, se trece la izolarea algelor verzi unicelulare. În acest scop se adaugă în 300 ml de mediu Knop-Pringsheim, pus într-un balon Erlenmeyer de 500 ml, 30 g de agar-agar și se sterilizează. Se lasă mediul de cultură să se răcească și se toarnă apoi în 10 cutii Petri cu diametrul de 10 cm, sterilizate în prealabil, astfel ca grosimea stratului de mediu agarizat să fie de circa 0,5 cm. Se acoperă cutiile Petri imediat după turnarea mediului în ele și după solidificarea acestuia se ia cu ajutorul unei pipete cîte o picătură din suspensia de cultură brută (din balonul Erlenmeyer în care aceasta a dobîndit cel mai repede nuanța ușor verzuie), bine agitată în prealabil și se depune pe suprafața mediului din cutiile Petri, în porțiunea centrală a acestora. Imediat după depunerea picăturilor de suspensie, ele se repartizează cît mai uniform prin întindere pe suprafața mediului solidificat, cu ajutorul unui triunghi de sticlă (fig. 2.17), după care se acoperă cutiile Petri cu capacele lor și se așază la lumină, la o fereastră cu expunere nordică. Prin această întindere a picăturii de cultură brută, algele sînt dispersate pe suprafața mediului agarizat și din fiecare celulă algală a speciilor unicelulare se formează, în urma înmulțirii, colonii. În momentul în care aceste colonii devin vizibile cu ochiul liber, se ia cu ajutorul unei anse sau a unui ac spatulat cîte o porțiune dintr-o colonie mai bine individualizată și se montează între lamă și lamelă într-o picătură de mediu Knop-Pringsheim, după care se examinează preparatul la microscop. În cazul cînd examenul microscopic atestă prezența numai a unei singure specii, se spală lama de microscopie cu mediu nutritiv turnat dintr-o pipetă, astfel încît mediul de spălare să curgă într-un balon Erlenmeyer cu capacitatea de 100 ml. Spălarea se continuă pînă în momentul cînd lamela ajunge în balon, după care se mai adaugă în el mediu de cultură pînă la aproximativ 1/3 din volumul lui, se astupă balonul cu un dop de vată și se așază la o fereastră cu expunere nordică. Se agită zilnic conținutul balonului pentru a împiedica, pe cît posibil, sedimentarea algelor care încep să se înmulțească în mediul de cultură. În momentul cînd mediul de cultură dobîndește o culoare verzuie, se ia o picătură din el, după ce a fost agitat în prealabil și se examinează la microscop pentru a stabili dacă s-a obținut o cultură pură. În cazul cînd în preparatul microscopic sînt prezente mai multe specii, se reia operația de izolare, pornind de la această cultură. Pentru a mări șansele de a obține o cul-

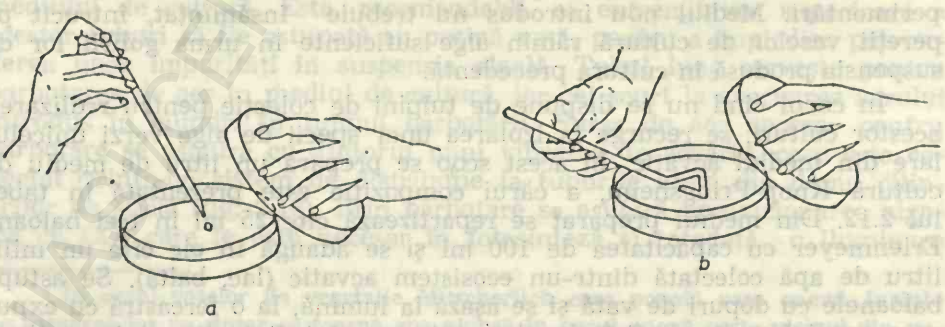


Fig. 2.17. Izolarea algelor unicelulare:
a – repartizarea picăturii din suspensia de cultură brută pe suprafața mediului agarizat;
b – întinderea picăturii pe suprafața mediului agarizat.

tură pură într-un timp scurt, se recomandă examinarea la microscop a unui număr cît mai mare de colonii de pe mediile agarizate din cutiile Petri și trecerea celor care par să fie pure, separat, în cîte un balon Erlenmeyer pe mediu lichid. În momentul în care s-a obținut într-unul din aceste medii lichide o cultură pură de alge unicelulare, se poate trece la cultivarea ei.

Algele izolate pot fi păstrate pe mediul Knop-Pringsheim agarizat și sterilizat. În acest scop se toarnă cîte 5—7 ml de mediu agarizat în eprubete sterilizate, se astupă eprubetele cu dopuri de vată și se așază în poziție înclinată, astfel ca suprafața mediului din ele să devină mai mare. După solidificarea mediului eprubetele pot fi utilizate pentru păstrarea culturilor pure de alge. Din suspensia care conține algele în cultură pură se ia o picătură cu ajutorul unei anse și se însămînțează mediul agarizat dintr-o eprubetă, întinzînd picătura pe suprafața lui, după care se astupă eprubeta cu dopul de vată. Se însămînțează astfel mai multe eprubete, după care acestea se păstrează la o lumină moderată (la o fereastră cu expunere nordică). Periodic, după ce algele au ajuns la o creștere abundentă, acoperind în bună parte suprafața mediului, se ia cu ajutorul unei anse o porțiune mică din cultură și se trece într-o altă eprubetă, cu mediu agarizat proaspăt pregătit. Se recomandă ca toate aceste operații să se efectueze cu respectarea procedeelor utilizate în microbiologie, pentru a înlătura posibilitatea infectării culturilor cu alte microorganisme. Algele păstrate în aceste condiții pot fi utilizate la însămînțarea mediilor de cultură lichide, ori de cîte ori cercetările reclamă producerea de material biologic pentru experimentări.

2.6. STABILIREA EFECTELOR DE CARENȚĂ ÎN AZOT, FOSFOR ȘI POTASIU ASUPRA PLANTELOR

Pentru stabilirea efectelor manifestate de carența în azot, fosfor și potasiu asupra creșterii și dezvoltării plantelor se utilizează tehnica cultivării plantelor pe soluții minerale nutritive.

Experimentul se efectuează cu plantule de porumb, în vîrstă de 3—5 zile, care se cresc conform procedeelor prezentate în paragraful 2.5.1 c, în următoarele variante:

— V_0 (martor), reprezentată prin soluție nutritivă Knop completă, a cărei rețetă este dată în tabelul 2.4 (varianta 2);
— V_1, reprezentată prin soluția Knop lipsită de azot;
— V_2, reprezentată prin soluția Knop lipsită de fosfor;
— V_3, reprezentată prin soluția Knop lipsită de potasiu.

Fiecare variantă se montează în patru repetiții.

Pregătirea vaselor de cultură și a capacelor acestora se face conform recomandărilor prezentate în paragraful 2.5.1 a—b.

În legătură cu prepararea soluțiilor de carență trebuie avut în vedere ca prin scoaterea din mediu a ionului carent, să nu se îndepărteze și ionul cu care acesta este asociat. Pentru a menține în mediu ionul partener al celui care urmează să fie scos, este necesar să se introducă în soluția de carență o altă combinație chimică ce conține ionul partener al celui carent, într-o cantitate identică cu cea în care se găsește în rețeta pentru soluția completă. Această combinație chimică trebuie aleasă astfel

ca ionul care trebuie menținut în soluție să fie asociat cu un alt ion care nu este necesar plantelor.

Ca atare, în varianta V_1 (fără azot) $Ca(NO_3)_2$ trebuie înlocuit cu $CaCl_2$, în varianta V_2 (fără fosfor) trebuie înlocuit KH_2PO_4 cu KCl, iar în varianta V_3 (fără potasiu) trebuie înlocuiți KCl și KH_2PO_4 cu NaCl, respectiv cu NaH_2PO_4. Cantitățile de substanțe care trebuie introduse în aceste medii de carență se calculează astfel ca ionii asociați cu cei ce se elimină să se găsească în aceste soluții în aceeași cantitate ca în rețeta indicată pentru soluția completă.

Spre exemplificare, în cazul variantei V_1 (fără azot) pentru a înlocui $Ca(NO_3)_2$ cu $CaCl_2$ se stabilește întîi cît Ca^{2+} se găsește în 1 g de $Ca(NO_3)_2$, adică în cantitatea de substanță care este indicată în rețetă pentru prepararea soluției complete. În acest scop se caută în tabelul 1 din anexă masa moleculară a $Ca(NO_3)_2$ care este 164,1 și în tabelul 2 masa atomică a calciului, care este de 40,04 și se aplică următorul raționament:

Dacă în 164,1 g $Ca(NO_3)_2$ se găsesc 40,04 g Ca
În 1 g $Ca(NO_3)_2$ se vor găsi x g Ca

De unde $x = \frac{40{,}04 \cdot 1}{164{,}1} = 0{,}24$ g Ca

Se caută apoi în tabelul 1 greutatea moleculară a $CaCl_2$ (=111,04) și se calculează în cîte grame de $CaCl_2$ se găsesc 0,24 g Ca, aplicînd raționamentul următor:

Dacă 40,04 g Ca se găsesc în 111,04 g $CaCl_2$
0,24 g Ca se vor găsi în x g $CaCl_2$

De unde $x = \frac{0{,}24 \cdot 111{,}04}{40{,}04} = 0{,}66$ g $CaCl_2$

Rezultă că în soluția carentă în azot în loc de 1 g $Ca(NO_3)_2$ se vor introduce 0,66 g $CaCl_2$, fapt ce permite menținerea ionilor de Ca^{2+} în această soluție într-o concentrație identică cu cea existentă în soluția completă.

Pentru prepararea celorlalte soluții de carență se procedează în același mod, căutînd în prealabil în tabelul 1 masele moleculare ale substanțelor ce trebuie înlocuite și ale celor cu care se înlocuiesc, iar în tabelul 2 masele atomice ale elementelor (ionilor) care trebuie înlocuite în mediile nutritive respective.

După efectuarea acestor calcule se trece la prepararea mediilor nutritive, respectînd recomandările date în paragraful 2.5.1 d. După pregătire se toarnă mediile în vasele de cultură, se scrie pe fiecare vas varianta și numărul repetiției, se verifică *p*H-ul mediilor și la nevoie se corectează în dependență de cerințele plantei cu care se experimentează[1] și apoi se fixează plantele în capacele vaselor.

Pe parcursul experimentării întreținerea culturii se face respectînd indicațiile date în paragraful 2.5.1.

[1] Pentru porumb *p*H-ul optim este de 6,6—6,8. Corectarea *p*H-ului soluțiilor nutritive se face, după caz, prin adăugarea cantităților corespunzătoare dintr-o soluție de KOH 10% sau HCl 10% (reactivul nr. 7).

TABELUL 2.9

Influența carenței în azot, fosfor și potasiu asupra aparatului foliar și creșterii plantelor în înălțime

Varianta	Repetiția	Numărul frunzelor	Înălțimea plantelor (în cm) în ziua					
			0[1]	7	14	21	28	35
V_0	R_1							
	R_2							
	R_3							
	R_4							
	Media							

Se înscriu în continuare în tabel celelalte variante.
[1] Ziua montării experimentului.

În cursul experimentării se fac (periodic, la intervale de 7 zile) observații asupra aspectului plantelor, pentru a sesiza efectele manifestate de carența în aceste elemente (numărul frunzelor formate, apariția pe ele a unor pete de cloroză sau de necroze etc.) și se măsoară înălțimea tulpinii lor la toate repetițiile variantelor, notînd rezultatele obținute într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 2.9. La sfîrșitul experimentului se reprezintă grafic creșterea tulpinilor, notînd pe ordonată intensitatea creșterii (în cm), iar pe abscisă timpul (în zile). În această reprezentare se vor utiliza valorile medii ale măsurătorilor pe variante, exprimînd intensitatea creșterii prin diferența înregistrată între două măsurători succesive.

La încheierea experimentului se scot plantele din vasele de cultură, se separă cormul lor pe organe și la fiecare plantă în parte se fac următoarele determinări:

— Masa sistemului radicular aflat în stare proaspătă.

— Volumul sistemului radicular (după procedeul descris în paragraful 7.2.3.6).

— Masa sistemului radicular uscat (după procedeul descris în paragraful 1.3.3.6).

— Masa tulpinii aflată în stare proaspătă.

— Masa tulpinii uscate (după procedeul descris în paragraful 1.3.3.6).

— Suprafața foliară (după procedeul prezentat în paragraful 7.2.3.7).

— Masa frunzelor proaspete.

— Masa frunzelor uscate (după procedeul descris în paragraful 1.3.3.6).

— Biomasa totală uscată a plantelor, prin însumarea biomasei uscate a organelor lor.

Toate datele se înscriu într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 2.10. Pe baza datelor obținute se vor face interpretările (luînd în considerare valorile medii pe variante), care vor ilustra efectele carenței în azot, fosfor și potasiu asupra plantelor.

TABELUL 2.10

Influența carenței în azot, fosfor și potasiu asupra creșterii organelor plantelor

Varianta	Repetiția	Rădăcina			Tulpina			Frunzele				Biomasa totală uscată (g)
		Masa proaspătă (g)	Masa uscată (g)	Conținutul în apă (%)	Masa proaspătă (g)	Masa uscată (g)	Conținutul în apă (%)	Suprafața (dm^2)	Masa proaspătă (g)	Masa uscată (g)	Conținutul în apă (%)	
V_0	R_1											
	R_2											
	R_3											
	R_4											
	Media											

Se înscriu în continuare în tabel celelalte variante.

2.7. STUDIUL INFLUENȚEI ÎNGRĂȘĂMINTELOR CU AZOT, FOSFOR ȘI POTASIU ASUPRA PLANTELOR CRESCUTE PE PĂMÎNT DE GRĂDINĂ

Experimentul permite evidențierea influenței diferitelor doze de îngrășăminte cu azot, fosfor și potasiu (administrate separat și în amestec) asupra creșterii și dezvoltării plantelor de cultură. De asemenea, permite reliefarea influenței pe care o exercită macroelementele azot, fosfor și potasiu asupra unor indici fiziologici (intensitatea fotosintezei și a respirației, conținutul de pigmenți asimilatori etc.) ai acestor plante.

Experimentul se montează în următoarele variante:

— V_0 — martor, cu sol de grădină;
— V_1 — cu sol de grădină + NH_4NO_3 (1,5 g/kg de sol);
— V_2 — cu sol de grădină + superfosfat (1,5 g/kg de sol);
— V_3 — cu sol de grădină + KCl (0,5 g/kg de sol);
— V_4 — cu sol de grădină + NH_4NO_3 (1,5 g/kg de sol) + superfosfat (1,5 g/kg de sol);
— V_5 — cu sol de grădină + NH_4NO_3 (1,5 g/kg de sol) + KCl 0,5 g/kg de sol);
— V_6 — cu sol de grădină + superfosfat (1,5 g/kg de sol) + KCl (0,5 g/kg de sol);
— V_7 — cu sol de grădină + NH_4NO_3 (1,5 g/kg de sol) + superfosfat (1,5 g/kg de sol) + KCl (0,5 g/kg de sol).

Pentru fiecare variantă se montează minimum 4 repetiții.

Pregătirea vaselor de vegetație, umplerea lor cu sol de grădină (uscat în prealabil la aer și cernut prin sita cu ochiurile de 2 mm în dia-

metru), stabilirea masei de udare a vaselor de vegetație (la o valoare de 60% din capacitatea de cîmp pentru apă a solului) și administrarea îngrășămintelor în solul din vasele de vegetație se fac în conformitate cu indicațiile date în paragraful 2.5.2 a, c, d.

În fiecare vas de vegetație se seamănă 10—15 cariopse de porumb, sau 20—30 cariopse de grîu, la adîncimea de 2—3 cm, așezînd cariopsele în adînciturî făcute în sol cu ajutorul unei baghete de sticlă. Se nivelează solul după semănat și se presară peste el un strat subțire de nisip, pentru a se împiedica formarea crustei impermeabile la suprafața lui în urma udărilor, deoarece aceasta ar îngreuna aerarea substratului și ar crea dereglări în absorbția apei și sărurilor minerale de către sistemul radicular al plantelor.

Pe parcursul desfășurării experimentului întreținerea plantelor se face în conformitate cu măsurile menționate pentru întreținerea plantelor cultivate pe soluții minerale nutritive (v. paragraful 2.5.1), cu excepția celor referitoare la aerarea și schimbarea periodică a mediului de cultură. În afara acestor măsuri, este necesar să se restabilească zilnic masa de udare a vaselor de vegetație, prin așezarea lor pe cîntar și adăugarea în ele a cantităților corespunzătoare de apă. În cazul în care se folosesc vase de vegetație Mitscherlich care posedă vase anexă (fig. 2.15), înainte de așezarea lor pe cîntar se toarnă apa ajunsă eventual în vasul anexă peste solul din vasul propriu-zis, după care se reașază vasul lor propriu-zis peste vasul anexă și apoi întreg ansamblul pe cîntar. Apa necesară pentru restabilirea masei de udare se adaugă încet peste solul din vasul propriu-zis.

După 3—4 zile de la montarea experimentului se notează puterea de străbatere a solului de către plante (numărul de plante răsărite), iar după răsărirea tuturor plantelor, acestea se răresc, lăsînd în fiecare vas

TABELUL 2.11

Influența îngrășămintelor cu azot, fosfor și potasiu asupra creșterii plantelor și recoltei

Varianta	Repetiția	Tulpina				Frunzele				Biomasa totală uscată a organelor supraterane (g)	Masa recoltei de boabe (g)
		Înălțimea (cm)	Masa proaspătă (g)	Masa uscată (g)	Conținutul în apă (%)	Suprafața (dm^2)	Masa proaspătă (g)	Masa uscată (g)	Conținutul în apă (%)		
V_0	R_1										
	R_2										
	R_3										
	R_4										
	Media										

Se înscriu în continuare în tabel celelalte variante.

de vegetație 1—3 plante în cazul cînd se lucrează cu porumb, sau 10—15 plante în cazul cînd experimentarea se face cu grîu.

În cursul perioadei de cultură se fac săptămînal observații asupra aspectului plantelor, culorii frunzelor și se notează data înspicării, înfloririi etc. La sfîrșitul experimentului se determină la fiecare plantă în parte înălțimea tulpinii (prin măsurători lineare), masa tulpinii, proaspete, masa tulpinii uscate (după procedeul descris în paragraful 1.3.3.6), suprafața foliară (după procedeul descris în paragraful 7.2.3.7), masa frunzelor proaspete, masa frunzelor uscate (după procedeul descris în paragraful 1.3.3.6), biomasa totală uscată a părților supraterane a plantelor și greutatea medie a recoltei de boabe. Datele obținute se înscriu într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 2.11.

Experimentul demonstrează că administrarea în amestec a îngrășămintelor cu azot, fosfor și potasiu favorizează creșterea armonioasă a plantelor și determină obținerea unor sporuri de recoltă. Din datele experimentului mai rezultă constatarea că azotul stimulează formarea masei vegetative a plantelor, potasiul are o influență favorabilă asupra proceselor lor de creștere, iar fosforul grăbește înspicarea la grîu, formarea știuleților la porumb și mărește recolta.

TABELUL 2.12

Rețetele mediilor nutritive utilizate pentru cultivarea algelor verzi unicelulare

Compusul	Mediul Prat Doza (g/l)	Mediul Knop-Pringsheim Doza(g/l)	Mediul Arnon[1] Doza (g/l)
KNO_3	0,1	1,0	—
K_2HPO_4	0,01	0,2	—
K_2SO_4	—	—	0,1
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,01	0,1	0,05
$Ca(NO_3)_2$	—	0,1	—
NH_4NO_3	—	—	0,1
$(NH_4)_2HPO_4$	—	—	0,2
HNO_3	—	—	0,1 ml dintr-o soluție 60% (reactivul nr. 5)
Uree	—	—	0,4
$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	0,001	0,001	—
EDTA	—	—	0,003

[1] La acest mediu se mai adaugă 0,5 ml soluție de microelemente, care conține la un litru următoarele substanțe:
— $FeSO_4$ — 0,6 ml dintr-o soluție 0,5%
— H_3BO_3 — 2,86 ml dintr-o soluție 0,1%
— $MnSO_4 \cdot H_2O$ — 1,81 ml dintr-o soluție 0,1%
— $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ — 0,08 ml dintr-o soluție 0,1%
— $ZnSO_4$ — 0,22 ml dintr-o soluție 0,1%
— $MoO_3 \cdot H_2O$ — 0,09 ml dintr-o soluție 0,1%.

2.8. STUDIUL INFLUENȚEI COMPOZIȚIEI MEDIILOR DE CULTURĂ ASUPRA CREȘTERII ALGELOR VERZI UNICELULARE

Experimentul se montează în următoarele trei variante, fiecare cu cîte o singură repetiție:

— V_1, reprezentată prin alge cultivate pe mediul Prat;

— V_2, reprezentată prin alge cultivate pe mediul Knop-Pringsheim;

— V_3, reprezentată prin alge cultivate pe mediul Arnon.

Aceste medii de cultură, ale căror rețete sînt prezentate în tabelul 2.12, se deosebesc între ele prin compoziție și concentrația în nutrienți. Mediul Prat are o concentrație mai mică, conține azot doar sub formă de anion NO_3^- și este lipsit de elementul calciu, care, potrivit rezultatelor unor

cercetări, nu este absolut necesar plantelor inferioare. Mediul Knop-Pringsheim este mai concentrat în nutrienți, iar mediul Arnon are concentrația cea mai mare, conține elementul azot sub mai multe forme (în anionul NO_3^-, în cationul NH_4^+ și sub formă organică în uree) și conține, în plus și microelementele absolut necesare plantelor.

Realizarea experimentului necesită efectuarea următoarelor operații:

a. *Pregătirea unei suspensii de alge pentru inocularea mediilor de cultură.* Pentru însămînțarea mediilor se pregătește din timp (cu 10—15 zile înainte de montarea experimentului) o suspensie de inoculare, prin însămînțarea unui volum de 100—200 ml de mediu Prat, introdus într-un cilindru de sticlă, cu rol de recipient de cultură. Se însămînțează acest mediu cu o tulpină de algă unicelulară, crescută pe mediu agarizat, în cultura de colecție, luînd cu ajutorul unei anse o cantitate mică din pelicula de alge existentă la suprafața mediului și introducînd-o în mediul lichid din cilindrul de sticlă. După însămînțarea mediului din cilindru, se introduce în interiorul lui un tub de sticlă, racordat prin intermediul unui tub de cauciuc la o pompă vibratoare de acvariu și se astupă cilindrul cu un dop de vată. Se așază recipientul de cultură la lumină (la fereastră, sau la o baterie de tuburi fluorescente care asigură o iluminare de 6 000—10 000 lucși) și se barbotează aer în mediul de cultură, în permanență, pentru a favoriza răspîndirea uniformă a algelor în suspensie, a asigura iluminarea lor cît mai uniformă și aprovizionarea lor cu dioxidul de carbon care le este necesar în fotosinteză. În momentul în care suspensia ajunge, în urma înmulțirii algelor, la o culoare de un verde intens, poate fi utilizată la inocularea mediilor de cultură stabilite prin schema variantelor experimentului.

În cazul cînd nu se dispune de tulpini de colecție, se impune izolarea unei tulpini de algă unicelulară, de preferință aparținînd genului *Chlorella*, în conformitate cu procedeul descris în paragraful 2.5.3. În urma izolării unei astfel de tulpini se pregătește o suspensie de inoculare, folosind procedeul descris anterior.

b. *Pregătirea vaselor de cultură.* Ca vase de cultură se pot folosi cilindri de sticlă (chiar cilindri gradați) cu o capacitate de 0,5—2 litri (toți cu același diametru și confecționați din sticlă de aceeași calitate, cărora li se atașează dopuri de cauciuc, străbătute de cîte două tuburi de sticlă, conform indicațiilor prezentate în paragraful 2.5.3. Înainte de utilizare recipientele de cultură se spală bine, împreună cu dopurile lor și se usucă.

c. *Pregătirea mediilor de cultură.* Mediile de cultură se pregătesc în ziua montării experimentului, într-o cantitate de 1—2 litri fiecare, în funcție de volumul vaselor de cultură ce vor fi utilizate. La prepararea acestor medii se recomandă ca sărurile indicate în rețetele lor să fie dizolvate în apa distilată introdusă în prealabil în balonul cotat, pînă la 1/2 din volumul lui, în următoarea ordine: întîi substanțele care conțin potasiu, apoi cele care conțin magneziu, cele care conțin calciu și la sfîrșit cele care conțin fier. Respectarea acestei succesiuni în dizolvarea sărurilor permite evitarea precipitării unora dintre ioni în mediul nutritiv, ceea ce ar putea duce la trecerea lor în forme greu accesibile sau inaccesibile pentru alge. După dizolvarea sărurilor prescrise în rețetă pentru mediul dat, se completează balonul cotat cu apă distilată pînă la semn, se agită bine conținutul lui pentru omogenizarea soluției și se

repartizează mediul preparat în cilindrul de sticlă folosit ca recipient de cultură, notînd pe el numărul variantei. La repartizarea mediilor în cilindri trebuie avut grijă ca în fiecare dintre ei să se introducă aceeaşi cantitate de mediu nutritiv.

d. *Însămînţarea mediilor de cultură.* Pentru însămînţarea mediilor de cultură se determină în suspensia pregătită pentru inoculare numărul de celule algale existente în unitatea de volum de suspensie (1 ml), prin procedeul prezentat în paragraful 7.2.3.1. După aceasta, se calculează numărul de mililitri de suspensie de inoculare ce trebuie introdus în mediile de cultură, pentru a realiza în aceasta o densitate numerică iniţială de 100 000 celule/ml. Calculul se face cu ajutorul formulei:

$$V=\frac{A}{B},$$

în care:

V=volumul de suspensie de inoculare (în ml) ce trebuie introdus în mediile de cultură pentru a realiza densitatea numerică iniţială a celulelor algale, stabilită la 100 000 celule/ml;

A=numărul total de celule algale ce trebuie să se găsească iniţial în volumul total al mediilor de cultură. Dacă volumul mediilor de cultură a fost stabilit să fie de un litru, la însămînţare în ele vor trebui să se găsească în total 100 000 celule×1 000 ml= =100 000 000 celule;

B=numărul de celule algale existente într-un mililitru de suspensie de inoculare.

După stabilirea volumului de suspensie de inoculare cu care trebuie însămînţate mediile de cultură pentru a realiza în ele o densitate numerică iniţială de 100 000 celule/ml, se scoate din fiecare cilindru un număr echivalent de mililitri de mediu de cultură şi apoi se însămînţează mediile prin introducerea în ele a volumului de suspensie de inoculare stabilit prin calcul, avînd grijă ca aceasta să se găsească sub agitare, pentru ca celulele algale să fie repartizate uniform în ea. În urma însămînţării mediilor se acoperă recipientele de cultură cu dopurile lor şi apoi se racordează tuburile lungi de sticlă ale acestora la un vibrator de acvariu, prin intermediul unor tuburi de cauciuc şi a unor tuburi de sticlă cu rol de distribuţie, conform reprezentării din figura 2.16. Se aşază instalaţia la lumină, la o fereastră sau la lumina unei baterii de tuburi fluorescente, care să asigure o iluminare de 6 000—10 000 lucşi şi se conectează vibratorul de acvariu la sursa de curent electric, pentru a se asigura barbotarea permanentă a suspensiilor algale pe parcursul desfăşurării experimentului.

TABELUL 2.13

Influenţa compoziţiei mediilor de cultură asupra creşterii algelor verzi unicelulare

Varianta	Numărul de celule/ml de suspensie în ziua										
	0[1]	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

[1] În ziua însămînţării mediilor de cultură.

În cursul perioadei de cultură se fac, de preferinţă zilnic (sau dacă acest lucru nu este posibil, la două, maximum trei zile) observaţii asupra creşterii algelor în fiecare variantă a experimentului, determinînd numărul de celule existente în unitatea de volum de suspensie, prin procedeul descris în paragraful 7.2.3.1. Rezultatele

obținute se trec într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 2.13. Datele obținute se reprezintă, la încheierea experimentului și grafic, notînd pe ordonată intensitatea creșterii algelor (în număr de celule/ml de suspensie), iar pe abscisă timpul (în zile). De asemenea, la încheierea experimentului se determină și biomasa rezultată în cadrul fiecărei variante, procedînd în modul următor:

TABELUL 2.14

Influența compoziției mediilor de cultură asupra acumulării de biomasă la algele verzi unicelulare

Varianta	Nr. hîrtiei de filtru	Volumul suspensiei filtrate (ml)	Masa inițială a hîrtiei de filtru (g)	Masa finală a hîrtiei de filtru (g)	Biomasa uscată a algelor (g)

a. Se iau trei hîrtii de filtru cu porii foarte fini, se numerotează ușor cu un creion pe margine și se introduc, într-o cutie Petri, într-un termostat la temperatura de 100—105°C pentru un interval de timp de 10—12 ore, după care se pun repede, manevrîndu-le cu o pensă, într-un exicator pentru răcire și după răcire se cîntăresc cît mai repede posibil, la o balanță analitică sau de torsiune, manevrîndu-le cu pensa. Se notează masa inițială a hîrtiilor într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 2.14.

b. Se așază hîrtiile de filtru în cîte o pîlnie de sticlă, astfel ca numărul scris pe ele să se găsească pe partea exterioară, se umectează cu apă distilată ca să adere la peretele pîlniilor și se așază pîlniile pe cîte un balon Erlenmeyer cu capacitatea de 500 ml.

c. Se iau din mediile de cultură, aflate sub agitare, volume de cîte 100 ml în cîte un balon Erlenmeyer de 200 ml și se filtrează aceste volume de suspensie, iar după filtrare se spală algele reținute pe hîrtiile de filtru cu apă distilată, de trei ori, pentru a înlătura urmele de săruri rămase pe ele din mediile de cultură.

d. După spălare se scot hîrtiile de filtru din pîlnii, se pun în cîte o cutie Petri, iar acestea se introduc în termostat, așezînd capacele lor în poziție oblică pentru a favoriza evaporarea apei eliminate în timpul uscării. La început uscarea se face timp de cîteva ore la temperatura de 40—70°C și apoi se continuă la 100—105°C pînă cînd probele ajung la masă constantă. După uscare se scot cutiile Petri din termostat, se acoperă cu capacele lor și se pun într-un exicator pentru răcire, iar după răcire se cîntăresc, ca și în cazul precedent, cît mai repede posibil și manevrîndu-le cu o pensă. Pentru a verifica dacă probele au ajuns la greutate constantă, ele se reintroduc din nou în termostat la temperatura de 100—105°C pentru două ore, după care se trec în exicator, iar după răcire se recîntăresc. În cazul cînd diferența dintre ultimele două cîntăriri nu depășește eroarea de cîntărire se consideră că probele sînt complet uscate. Rezultatele se notează în tabelul întocmit după modelul prezentat în tabelul 2.14. Diferența dintre masele finale și cele inițiale ale hîrtiilor de filtru va reprezenta biomasa uscată a algelor din volumele de suspensii luate la filtrare.

2.9. DIAGNOZA FOLIARĂ

Diagnoza foliară este un procedeu utilizat frecvent în practică pentru testarea stării de nutriție a plantelor de cultură și aplicarea corectă a îngrășămintelor.

Prin acest procedeu se urmărește:

— Controlul stării de aprovizionare cu elemente nutritive a plantelor, pentru stabilirea epocilor de aplicare a îngrășămintelor și a unui raport optim între elementele administrate, avîndu-se în vedere fenomenele de aditivitate, sinergism și antagonism al ionilor.

— Prognoza producției (recoltei) pe baza asigurării plantelor cu principalele elemente nutritive.

— Stabilirea ordinei de recoltare din diferitele tarlale a culturilor, după gradul lor de maturare. Astfel, de exemplu, la sfecla de zahăr există o corelație strînsă între conținutul de azot nitric din pețiolul frunzelor și depunerea zaharurilor în rădăcini. Cînd în pețiol nu mai există nitrați, se poate trece la recoltare, întrucît nu se mai depune zahăr în rădăcinile acestor plante.

Diagnoza foliară, în sens larg, cuprinde testul colorimetric al pețiolului, al nervurii mediane, al tulpinii ierboase prin analiza sucului extras din ele prin presare, testul bazat pe conținutul total în elemente nutritive al unor țesuturi sau organe vegetale.

Procedeul de lucru se selectează în dependență de planta analizată, vîrsta ei și elementele urmărite.

Datele de analiză obținute la diagnoza foliară trebuie corelate cu rezultatele cercetărilor ce urmăresc creșterea și dezvoltarea plantelor, intensitatea unor procese fiziologice și biochimice, precum și cu producția. În acest fel se poate face o extrapolare a rezultatelor analizelor de laborator și o interpretare corectă a acestora.

Ridicarea probelor pentru analiză trebuie să se facă pentru fiecare specie în perioada cînd concentrația în elemente nutritive suferă fluctuații relativ mici. În principiu, analizele trebuie făcute în prima jumătate a perioadei de vegetație, pentru a se putea face corectarea eventualelor carențe prin aplicarea îngrășămintelor corespunzătoare.

Probele pentru analize (pețioluri, nervuri, tulpini, frunze etc.) trebuie alese în așa fel încît să reflecte cel mai bine gradul de aprovizionare al plantelor cu elemente nutritive, sau cu un anumit element. Aceste probe trebuie să fie uniforme și reprezentative, luate de la aceeași înălțime de pe plantă și aceeași expoziție.

Conținutul în elemente nutritive al țesuturilor și organelor vegetale constituie doar un indiciu aproximativ referitor la nevoia de îngrășăminte a plantelor. În mod strict, datele sînt valabile numai pentru plantele aflate în curs de creștere.

2.9.1. TESTAREA COLORIMETRICĂ A SUCULUI OBȚINUT PRIN PRESAREA VASELOR CONDUCĂTOARE ȘI A ȚESUTURILOR PLANTELOR

Analiza sucului stors din plante constituie un mijloc rapid utilizat pe teren și în laborator pentru diagnosticarea stării de aprovizionare a plantelor cu elementele nutriției minerale.

La testări se utilizează un extract apos obținut prin presarea limbului, pețiolului, lăstarilor tineri etc. Analiza poate fi efectuată la toate plantele la care extragerea sucului se face cu ușurință. La speciile la care sucul este puternic colorat în verde, denaturînd reacțiile de culoare

care se utilizează pentru testări, se recurge la procedeele clasice de analiză calitativă sau cantitativă.

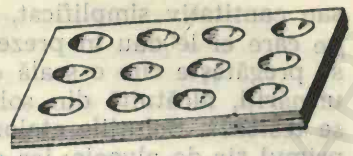


Fig. 2.18. Placă de porțelan cu alveole (după Davidescu D., și Davidescu Velicia).

Modul de lucru. Probele pentru analiză trebuie să fie reprezentative. Ele se ridică în mod diferențiat în dependență de speciile analizate și faza de vegetație. De exemplu, la cereale probele se iau pe etaje, începînd cu cel de-al doilea etaj. La cartof probele se ridică din partea mijlocie a tulpinii, sau se iau frunze din partea mediană de pe tulpină. Perioada cea mai potrivită pentru ridicarea probelor este dimineața între orele 7—9, cînd procesele fiziologice nu au atins încă intensitatea maximă. Probele recoltate din cîmp se șterg cu o bucată de tifon și apoi se mărunțesc prin tăiere cu foarfecele și se amestecă bine.

Extragerea sucului se face cu o presă cleşte sau cu o presă tubulară (fig. 1.38)[1].

Sucul obținut servește la determinarea pe cale colorimetrică a elementelor nutritive, direct sau după o prealabilă diluare a acestuia cu apă distilată în raport de 1 : 1, 1 : 5 sau 1 : 10. Pentru analiză sînt suficiente 4—5 picături, care se pun cu pipeta în alveolele unei plăci de porțelan (fig. 2.18). În aceste fracțiuni ale sucului se determină calitativ.

TABELUL 2.15

Determinarea calitativă a elementelor din sucul vegetal proaspăt

Elementul care se determină	Numărul alveolelor				Reactivul care se adaugă	Culoarea
	1 o picătură de suc proaspăt	2 o picătură de suc proaspăt, diluat 1 : 1	3 o picătură de suc proaspăt, diluat 1 : 5	4 o picătură de suc proaspăt, diluat 1 : 10		
azot (NO_3^-)[1]					o picătură de difenilamină	albastră
					o picătură de brucină	portocalie
fosfor (PO_4^{3+})					o picătură de molibdat de amoniu 1%+o picătură de $SnCl_2$ 2%	albastră
potasiu (K^+)					o picătură de cobaltnitrit de sodiu+o picătură de HCl 10%	precipitat galben

[1] Se va utiliza, după posibilități, unul dintre cele două procedee de determinare.

[1] Modul de utilizare a acestor prese este descris la p. 38.

sau cantitativ simplificat, diferiți ioni, pe baza unor reacții de culoare pe care ei le dau în prezența unor reactivi specifici. Pentru determinări se pregătește cîte o scală colorimetrică etalon pentru fiecare dintre ionii urmăriți, alcătuită din soluții cu un conținut cunoscut în elementul ce se testează. Soluțiile etalon se pun pe aceeași placă de colorimetrare, în primul șir de alveole, iar celelalte două șiruri de alveole se folosesc pentru probele de suc stors din plante. Cînd coloratia obținută în urma adăugării reactivilor peste probele de suc este mai intensă decît culoarea etalonului ultim, este necesar ca sucul să se dilueze cu apă distilată în raport de 1 : 1, 1 : 5 sau de 1 : 10, adăugînd la 0,1 ml suc 0,1 ml respectiv 0,5 ml sau 1 ml de apă distilată, după care se amestecă bine diluțiile obținute cu o baghetă subțire de sticlă și se folosesc pentru analiză.

Schema operațiilor pentru determinarea în sucul stors din materialul vegetal a azotului nitric, fosforului anorganic și a potasiului este redată în tabelul 2.15. Cu cît sucul conține o cantitate mai mare din aceste elemente, cu atît intensitatea reacțiilor de culoare este mai mare.

BCUIAȘI/CENTRALĂ UNIVERSITARĂ

3
FOTOSINTEZA

Fotosinteza este procesul fiziologic prin care plantele fotoautotrofe își sintetizează substanțele organice cu ajutorul luminii și cu participarea pigmenților asimilatori, folosind ca materii prime o sursă anorganică de carbon (dioxidul de carbon din aer în cazul plantelor terestre, respectiv dioxidul de carbon dizolvat în apă și ionii bicarbonat în cazul plantelor acvatice submerse), apă și săruri minerale.

În cursul acestui proces, care este însoțit de o degajare de oxigen, o parte din energia radiațiilor solare absorbite de pigmenții asimilatori este înglobată sub formă de energie chimică în moleculele substanțelor organice sintetizate.

3.1. EVIDENȚIEREA FOTOSINTEZEI

Pornind de la ecuația generală a fotosintezei

$$CO_2 + H_2O \xrightarrow[\text{(pigmenți asimilatori)}]{\text{lumină}} \text{substanțe organice} + O_2,$$

ecuație în care participarea sărurilor minerale nu este menționată, rezultă constatarea că pentru desfășurarea acestui proces este absolut necesar un factor intern și anume prezența (în celulele, țesuturile și organele de asimilație) pigmenților asimilatori, iar dintre factorii mediului extern prezența luminii și a dioxidului de carbon.

La plantele terestre amilofile (plantele care produc amidon) demonstrarea necesității prezenței acestor factori se poate face prin evidențierea în frunze a amidonului, care este produsul cel mai ușor de identificat al fotosintezei, iar la plantele acvatice superioare submerse se poate face prin evidențierea producerii de oxigen, pe care aceste organisme îl degajă, în anumite condiții experimentale, sub formă de bule de gaz.

3.1.1. EVIDENȚIEREA NECESITĂȚII PREZENȚEI PIGMENȚILOR ASIMILATORI PENTRU DESFĂȘURAREA PROCESULUI DE FOTOSINTEZĂ

Pentru punerea în evidență a necesității prezenței pigmenților asimilatori în procesul de fotosinteză, se folosesc plante de *Coleus*. Frunzele acestor plante se caracterizează prin faptul că în zona centrală a limbului lor celulele sînt bogate în pigmenți antocianici și sînt lipsite de pigmenți asimilatori (fig. 3.1 a).

Pentru evidențierea necesității prezenței acestui factor intern la desfășurarea fotosintezei, se detașează o frunză de pe o plantă care a fost ținută în prealabil cîteva ore la lumină, se introduce într-un pahar Berzelius în care s-a pus apă astfel ca frunza să fie bine acoperită și se fierbe pentru a omorî celulele și a extrage pigmenții antocianici. După extragerea acestor pigmenți se înlocuiește apa din pahar cu alcool etilic (sau metilic), se acoperă paharul cu o sticlă de ceas pentru a evita aprinderea vaporilor de alcool și se fierbe în continuare frunza, la flacără mică, pentru a extrage din ea pigmenții asimilatori. În urma extragerii acestor pigmenți, fapt evidențiat de culoarea albicioasă a limbului (constatată prin scoaterea periodică a frunzei din alcoolul aflat în curs de fierbere, după ce în prealabil s-a îndepărtat paharul de deasupra flăcării), se scoate frunza din pahar, se spală cu apă și se introduce într-un cristalizor în care s-a pus în prealabil o soluție Lugol, adică o soluție de iod în iodură de potasiu (reactivul nr. 25), care are proprietatea de a colora amidonul în albastru. După un interval de timp de 2—3 minute se scoate frunza din cristalizor, se spală cu apă și i se etalează limbul pe o placă de faianță sau de porțelan de culoare albă. Se va constata că limbul se colorează în albastru doar în acele zone ale sale care au posedat pigmenți asimilatori (fig. 3.1 b), fapt ce demonstrează că substanțele organice, dintre care amidonul se pune în evidență cel mai ușor, se sintetizează, la lumină, doar în prezența pigmenților asimilatori.

Faptul că amidonul se sintetizează în cloroplaste, care sînt organitele fotosintezei, se poate pune în evidență cu ajutorul unei ramuri de *Elodea canadensis*, care a fost ținută în prealabil cîteva ore la lumină.

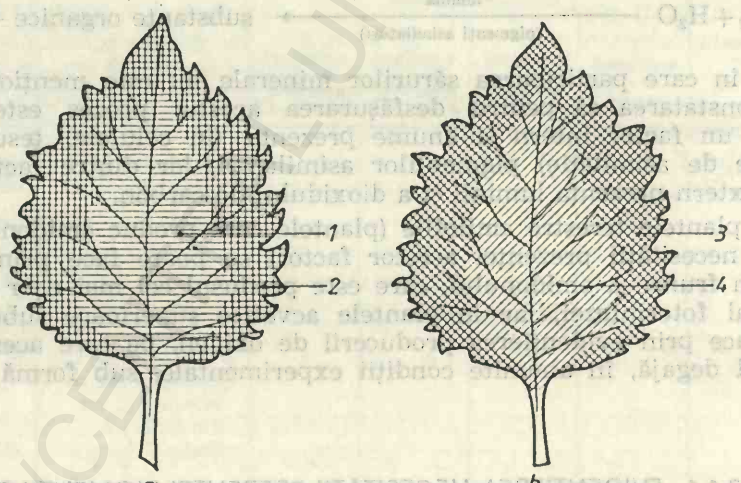


Fig. 3.1. Evidențierea necesității prezenței pigmenților asimilatori pentru desfășurarea fotosintezei:
a — frunză de Coleus, cu pigmenți antocianici în zona centrală a limbului și pigmenți asimilatori înspre margine; b — aceeași frunză, după extragerea din ea a pigmenților asimilatori și efectuarea probei cu iod a lui Sachs; 1 — zona cu pigmenți antocianici; 2 — zona cu pigmenți asimilatori; 3 — zonă colorată în albastru, datorită acumulării amidonului în cursul fotosintezei (zona coincide cu cea în care s-au găsit pigmenții asimilatori); 4 — zonă de culoare gălbuie, lipsită de amidon.

Se fierbe ramura timp de 2—3 minute într-o eprubetă cu apă, după care se înlocuiește apa din eprubetă cu alcool etilic de 96% (sau cu alcool metilic) și se continuă fierberea pînă cînd ramura se decolorează ca urmare a extragerii pigmenților asimilatori. După decolorare se detașează de pe ramură 2—3 frunze care se pun într-o sticlă de ceas cu o soluție de KOH 1% pentru 4—5 minute, după care se spală frunzele cu apă distilată și se trec într-o sticlă de ceas în soluție Lugol (reactivul nr. 25) pentru 2—3 minute și apoi se spală din nou cu apă și se observă la microscop, între lamă și lamelă într-o picătură de apă. În interiorul cloroplastelor se vor putea vedea granulele de amidon colorate în albastru. Experimentul se mai poate realiza și prin tratarea directă a frunzelor cu cloral hidrat (reactivul nr. 17), care distruge pigmenții clorofilieni. Decolorarea frunzelor și colorarea granulelor de amidon se fac direct pe lama de microscopie, într-o picătură de soluție de cloral hidrat și de soluție Lugol, după care se observă preparatul la microscop.

3.1.2. DEMONSTRAREA NECESITĂȚII PREZENȚEI LUMINII PENTRU DESFĂȘURAREA FOTOSINTEZEI

Punerea în evidență a necesității prezenței luminii pentru desfășurarea fotosintezei se poate face prin următoarele experimente:

a. Se fixează cu ajutorul unor agrafe pe ambele fețe ale unei frunze de *Pelargonium* nedetașată de pe plantă (sau pe fețele unor frunze aparținînd altor specii de plante amilofile) o fișie de hîrtie neagră (fig. 3.2 a), după care se așază ghiveciul cu planta la întuneric, cu scopul ca frunzele ei să se golească de amidon, în urma procesului de transport al asimilatelor în celelalte organe ale plantei. După acest interval de timp se expune ghiveciul cu planta pentru cîteva ore la lumină și apoi se detașează frunza acoperită parțial cu hîrtia neagră, se înlătură hîrtia de

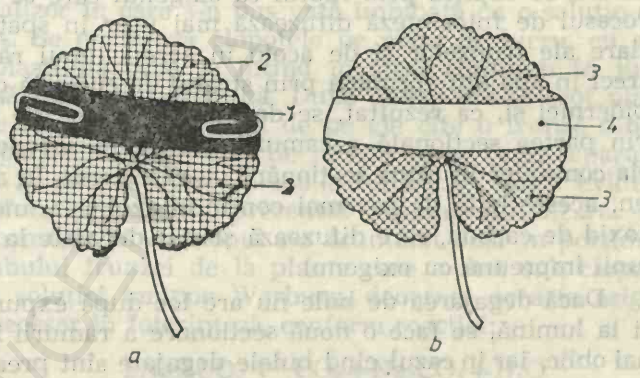


Fig. 3.2. Evidențierea necesității prezenței luminii pentru desfășurarea fotosintezei:
a — frunză de Pelargonium, acoperită pe ambele fețe ale limbului cu o fișie de hîrtie neagră și expusă la lumină; b — aceeași frunză după extragerea din ea a pigmenților asimilatori și efectuarea probei cu iod a lui Sachs; 1 — hîrtie neagră; 2 — porțiunile de limb iluminate; 3 — zone colorate intens în albastru, datorită acumulării amidonului; 4 — zonă de culoare gălbuie, lipsită de amidon, deoarece a fost ferită de lumină.

pe suprafața ei și se introduce frunza într-un pahar Berzelius cu alcool etilic de 96% (sau cu alcool metilic) și se fierbe la flacără mică, după ce în prealabil s-a acoperit paharul cu o sticlă de ceas pentru a evita eventuala aprindere a vaporilor de alcool, pînă cînd frunza se decolorează complet, ca urmare a extragerii pigmenților asimilatori din țesuturile ei. Se scoate apoi frunza din pahar, se spală cu apă și se introduce într-un cristalizor care conține soluție Lugol (reactivul nr. 25) în care se lasă cu limbul complet imers timp de 2—3 minute. După acest interval de timp se scoate frunza din soluție, se spală cu apă și se așază, etalîndu-i limbul, pe o placă de faianță sau de porțelan, de culoare albă. Se va constata că limbul frunzei se colorează în albastru doar în zonele în care lumina a ajuns pe suprafața lui (în zonele care n-au fost acoperite cu hîrtie neagră), zone în care în timpul fotosintezei s-au sintetizat substanțe organice, printre care și amidonul, care se colorează în albastru în prezența soluției Lugol (fig. 3.2 b).

b. Necesitatea prezenței luminii pentru desfășurarea fotosintezei poate fi pusă în evidență și cu ajutorul plantelor superioare submerse. În acest scop se ia o ramură a unei plante acvatice submerse *(Elodea, Ceratophyllum, Myriophyllum)*, se secționează oblic la partea bazală astfel ca să se obțină un fragment de 6—10 cm lungime și se introduce cu vîrful în jos într-o eprubetă umplută cu apă de conductă, aproape pînă la refuz. Se fixează ramura, cu ajutorul unei baghete de sticlă, astfel ca partea sa secționată să se găsească sub nivelul apei, cît mai mult posibil și să nu atingă pereții eprubetei, după care se așază eprubeta cu ramura într-un stativ la lumină naturală sau la o distanță de 20—30 cm de un bec electric. După 2—3 minute se va putea constata că prin partea secționată a ramurii încep să se degaje bule de gaz (fig. 3.3). Eliminarea bulelor de gaz prin partea secționată a ramurii se explică prin faptul că oxigenul care se formează în procesul de fotosinteză difuzează mai ușor în spațiile intercelulare ale frunzelor și de acolo în aerenchimul ramurii, decît direct în apa din eprubetă prin stratul de cuticulă de la nivelul epidermei și, ca rezultat, se degajă sub formă de bule de gaz prin partea secționată a ramurii, prin care aerenchimul acesteia comunică în urma secționării cu exteriorul. În afară de oxigen, aceste bule de gaz mai conțin și azot, iar uneori chiar și dioxid de carbon, care difuzează și sînt degajate la nivelul secțiunii împreună cu oxigenul.

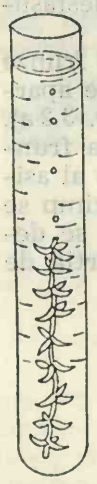


Fig. 3.3. Eliminarea de bule de oxigen de către ramura de Elodea canadensis ținută la lumină, după secționarea ei prealabilă.

Dacă degajarea de bule nu are loc după expunerea ramurii la lumină, se face o nouă secționare a ramurii într-un plan mai oblic, iar în cazul cînd bulele degajate sînt prea numeroase în unitatea de timp (care se consideră că este minutul) secționarea se face într-un plan mai puțin oblic în raport cu axul ramurii.

După ce se constată, prin numărarea succesivă a bulelor degajate de ramură în intervalul de timp de un minut, că ramura degajă un număr constant de bule pe unitatea de timp, se înfășoară eprubeta cu hîrtie neagră, pe toată porțiunea ei în care se găsește ramura și se urmărește în continuare dega-

jarea bulelor de gaz. Se va constata că în lipsa luminii degajarea de bule încetează.

c. Se iau două fragmente de ramură de *Elodea canadensis*, lungi de 3—4 cm și se introduc în cîte o eprubetă cu apă de conductă. Una dintre eprubete se așază pentru 2—3 zile la întuneric, iar cealaltă se lasă la lumină. După scurgerea acestui interval de timp se fierbe ramura care a fost ținută la lumină și se încearcă evidențierea amidonului în cloroplaste, supunînd ramura operațiilor descrise în paragraful 3.1.1. În interiorul cloroplastelor se vor putea observa granulele de amidon, colorate în albastru, fapt ce dovedește că această substanță este un produs al fotosintezei. Dacă se reiau aceste operații cu ramura care a fost ținută la întuneric, la examenul microscopic al frunzelor nu se va putea pune în evidență amidonul în cloroplaste, deoarece în lipsa luminii fotosinteza nu se poate desfășura și ca atare produșii ei nu se acumulează în cloroplaste, care sînt organitele în care își are sediul acest proces fiziologic.

3.1.3. DEMONSTRAREA NECESITĂȚII PREZENȚEI DIOXIDULUI DE CARBON PENTRU DESFĂȘURAREA FOTOSINTEZEI

Pentru evidențierea necesității prezenței dioxidului de carbon la desfășurarea fotosintezei se efectuează următoarele experimente:

a. Se iau două ghivece cu plante de *Pelargonium* (sau cu alte plante amilofile) și după ce se acoperă parțial cu hîrtie neagră 2—3 frunze ale acestora (conform procedeului redat în figura 3.2 a, se țin plantele timp de două zile la întuneric pentru ca frunzele lor să se golească de tot amidonul pe care l-au conținut. După acest interval de timp, se așază ambele ghivece la lumină sub cîte un clopot de sticlă, sub care s-au introdus în prealabil în primul un cristalizator în care s-a pus vată îmbibată cu o soluție tampon Warburg nr. 6 (reactivul nr. 42), iar în al doilea un cristalizor în care s-a pus vată îmbibată cu o soluție de KOH (sau NaOH) 30%. Se etanșează clopotele pe masa de lucru, cu ajutorul unor bucăți de plastilină care se întind în strat continuu în jurul marginei lor și se lasă plantele la lumină. După cîteva ore se scot plantele de sub clopotele de sticlă, se detașează de pe ele cîte o frunză dintre cele care au fost acoperite parțial cu hîrtie neagră și se face, separat pentru fiecare frunză în parte, proba cu iod a lui Sachs, adică evidențierea amidonului conform procedeului prezentat în paragraful 3.1.2 a.

Se va constata că amidonul s-a acumulat doar în porțiunile neacoperite ale limbului frunzei de la planta care a stat sub clopotul de sticlă în prezența soluției tampon Warburg, deoarece aceasta asigură dioxidul de carbon necesar în fotosinteză, conform reacției:

$$2NaHCO_3 \rightleftharpoons CO_2 + Na_2CO_3 + H_2O$$

În frunza provenită de la planta ținută sub clopotul de sticlă în prezența soluției de hidroxid nu se formează amidon nici în zonele limbului care nu au fost acoperite cu hîrtie neagră, deoarece hidroxidul a absorbit dioxidul de carbon care a existat inițial în aerul de sub clopotul de sticlă (inclusiv pe cel care a provenit din respirația organelor plantei pe parcursul experimentării), conform reacției:

$$2KOH + CO_2 \longrightarrow K_2CO_3 + H_2O$$

Ca rezultat, în lipsa sursei de carbon, planta nu a putut sintetiza substanțe organice, fapt ce explică absența amidonului în frunzele ei.

b. Se introduce într-o eprubetă umplută cu apă de conductă o ramură tînără a unei plante submerse (de preferință o ramură de *Elodea canadensis*), după ce a fost secționată oblic la partea bazală cu ajutorul unei lame de ras, se fixează eprubeta într-un stativ așezat la o distanță de circa 20—30 cm de un bec electric și se numără bulele degajate de ramură în timp de un minut. În momentul în care, în urma unor numărări succesive, se constată că numărul bulelor degajate a devenit constant, se înlocuiește apa din eprubetă cu apă de conductă fiartă timp de 20 de minute și lăsată să se răcească pînă la temperatura laboratorului. Lăsînd eprubeta la aceeași distanță față de sursa de lumină, se va constata că degajarea de bule încetează, deoarece prin fierbere s-a înlăturat dioxidul de carbon care a fost solvit în apă. În cazul cînd ramura va degaja totuși un număr mic de bule, acest proces se datorește faptului că în timpul răcirii apei a avut loc dizolvarea în ea a unei cantități mici de dioxid de carbon din aer.

Dacă se adaugă în apa din eprubetă o cantitate mică de $NaHCO_3$, cu ajutorul unei baghete de sticlă al cărei capăt a fost udat în prealabil cu apa din eprubetă pentru ca să adere substanța de suprafața ei, după dizolvarea și difuziunea substanței se va constata că ramura începe să degaje un număr mare de bule, deoarece bicarbonatul de sodiu pune în libertate dioxid de carbon după reacția:

$$2NaHCO_3 \longrightarrow CO_2 + Na_2CO_3 + H_2O$$

3.1.4. EVIDENȚIEREA PRODUCERII DE OXIGEN ÎN TIMPUL DESFĂȘURĂRII FOTOSINTEZEI

Producerea de oxigen în timpul desfășurării fotosintezei poate fi pusă în evidență cu ajutorul plantelor acvatice superioare submerse (de preferință cu *Elodea canadensis*, iar în lipsa acesteia cu specii de *Ceratophyllum* sau de *Myriophyllum*).

Pentru demonstrarea faptului că bulele de gaz degajate de ramurile secționate ale plantelor acvatice submerse sînt de oxigen, se secționează oblic, cu ajutorul unei lame de ras, cîteva ramuri de *Elodea*, care se introduc într-o pîlnie de sticlă, cu partea secționată orientată spre gîtul pîlniei. Se introduce apoi pîlnia într-un vas umplut cu apă, așezînd-o pe două baghete de sticlă, astfel ca nivelul apei din vas să depășească extremitatea gîtului pîlniei, după care se așază pe gîtul pîlniei o eprubetă umplută cu apă astfel ca să nu rămînă în ea aer. În acest scop se umple eprubeta cu apă pînă la refuz, se astupă cu degetul mare, se întoarce cu gura în jos, se introduce cu gura în vasul cu apă și, după ce se ia degetul de pe gura eprubetei, se așază pe gîtul pîlniei fără a o ridica deasupra nivelului apei din vas. Se lasă instalația astfel pregătită la lumina naturală sau la cea furnizată de un bec electric și se va observa că în urma desfășurării fotosintezei ramurile degajă bule de gaz, care se ridică prin gîtul pîlniei și se acumulează în eprubetă, dezlocuind apa din interiorul ei (fig. 3.4). După ce eprubeta s-a umplut cu gazul acumulat, ea se ridică de pe gîtul pîlniei fără a o scoate din apă, i se astupă gura cu degetul mare, se scoate din vasul cu apă, se întoarce cu gura

în sus și se introduce repede în interiorul ei un băț de chibrit care în urma unei arderi întrerupte are jăratec. Se va constata că bățul de chibrit va reîncepe să ardă cu o flacără vie, fapt ce demonstrează, că gazul degajat de plante în cursul desfășurării fotosintezei este oxigenul, deoarece acesta este singurul gaz capabil să întrețină procesele de combustie.

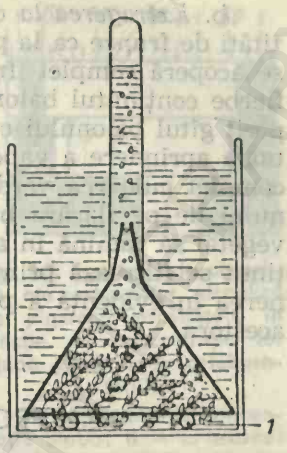


Fig. 3.4. Captarea oxigenului degajat în cursul fotosintezei de către ramurile secționate ale plantelor submerse (după Brugovitzky):
1 — baghete de sticlă (văzute în secțiune transversală), care susțin pilnia cu scopul ca ramurile să se poată aproviziona cu dioxidul de carbon, existent sub formă solvită, din toată masa apei din vas.

3.2. STUDIUL PIGMENȚILOR ASIMILATORI

Celulele, țesuturile și organele plantelor fotoautotrofe, adaptate la îndeplinirea procesului de fotosinteză, conțin un ansamblu de pigmenți care intervin în acest proces, cunoscuți sub denumirea de pigmenți asimilatori. Acești pigmenți sînt încadrați în trei grupe: grupa pigmenților clorofilieni, grupa pigmenților carotenoizi și grupa pigmenților ficobilini. Dintre pigmenții clorofilieni clorofila *a* se găsește în celulele asimilatoare ale tuturor plantelor fotoautotrofe, iar clorofila *b* se întîlnește la plantele superioare și algele verzi. Pigmenții carotenoizi, reprezentați prin diferiți caroteni și carotenoli (xantofile) însoțesc pigmenții clorofilieni în celulele asimilatoare ale tuturor plantelor, iar cei ficobilini se întîlnesc împreună cu ceilalți pigmenți la algele albastre (ficocianina) și la cele roșii (ficoeritrina).

3.2.1. EXTRAGEREA PIGMENȚILOR ASIMILATORI

Cu excepția pigmenților ficobilini, care sînt atașați de proteine solubile în apă și pot fi extrași prin introducerea în apă distilată a organismelor în care se găsesc, ceilalți pigmenți asimilatori pot fi extrași din organismele vegetale doar cu ajutorul unor solvenți organici. Extragerea acestor pigmenți asimilatori se poate face la rece și la cald

a. *Extragerea la rece.* Se iau 5 grame de frunze proaspete (de preferință de spanac sau de urzică) sau un gram de frunze uscate, care după ce se mărunțesc se pun într-un mojar și se toarnă peste ele o cantitate mică de acetonă. Se triturează bine frunzele, iar acetona care a extras o parte din pigmenți se colectează într-un vas, trecînd-o printr-o pîlnie în care s-a pus o hîrtie uscată de filtru. Operația se repetă cu noi cantități de acetonă adăugată în mojar, pînă cînd din materialul vegetal s-a extras toată cantitatea de pigmenți, moment care poate fi stabilit după culoarea acestuia. Trebuie avut grijă ca acetona adăugată să nu fie în cantitate prea mare, pentru ca extractul obținut să nu fie prea diluat. Extractul poate fi utilizat la punerea în evidență a proprietăților pigmenților asimilatori și la separarea acestora.

b. *Extragerea la cald.* Se iau într-un balon Erlenmeyer aceleași cantități de frunze ca la punctul *a* și se adaugă alcool etilic de 96% pînă cînd se acoperă complet frunzele, care au fost mărunțite în prealabil. Se fierbe conținutul balonului la flacără mică, după ce în prealabil s-a acoperit gîtul balonului cu o sticlă de ceas sau o pîlnie pentru a evita eventuala aprindere a vaporilor de alcool, pînă cînd materialul vegetal pierde complet culoarea verde. Acest moment se stabilește prin ridicarea balonului de pe flacăra becului de gaz și înclinarea lui astfel ca materialul vegetal să rămînă în afara extractului alcoolic de pigmenți. Extractul obținut se filtrează printr-o hîrtie de filtru uscată și poate fi folosit la punerea în evidență a proprietăților pigmenților asimilatori și la separarea acestora.

3.2.2. PROPRIETĂȚILE PIGMENȚILOR ASIMILATORI

Dintre proprietățile pigmenților asimilatori un rol deosebit de important în procesul de fotosinteză au dicroismul, spectrele de absorbție și însușirea pigmenților clorofilieni de a se fotooxida.

a. *Dicroismul.* Prin dicroism se înțelege proprietatea pe care o manifestă unele soluții de a avea în lumina directă o anumită culoare, iar prin reflexie o altă culoare. Pentru a observa acest fenomen se ia o eprubetă cu un extract alcoolic de pigmenți asimilatori și se privește eprubeta prin transparență, așezînd-o între observator și sursa de lumină: extractul va avea o culoare verde. Privind apoi eprubeta din partea din care vine sursa de lumină sau lateral față de aceasta, extractul va apare de culoare roșie. Acest fenomen se datorește proprietății pigmenților asimilatori de a absorbi radiațiile de lumină și de a le transforma pe cele cu lungime de undă mai mică în radiații roșii, care au lungimea de undă mai mare. Fenomenul sugerează însușirea pe care o au pigmenții asimilatori de a capta radiațiile de lumină și de a realiza transformări energetice, dintre care un rol deosebit îl are transformarea energiei luminii în energie chimică încorporată în moleculele de substanțe organice sintetizate în cursul procesului de fotosinteză.

b. *Spectrele de absorbție ale pigmenților asimilatori.* Pigmenții asimilatori au capacitatea de a absorbi selectiv radiațiile spectrului solar, conform particularităților lor de structură. Această însușire a pigmenților asimilatori poate fi pusă în evidență așezînd o cuvă cu un extract alcoolic diluat de pigmenți asimilatori, obținut prin procedeul descris în paragraful 3.2.1 b, în fața fantei unui spectroscop. Privind prin ocular, se va observa că în spectru apar cel puțin două benzi de absorbție, dintre care una situată în domeniul radiațiilor roșii, iar cealaltă în cel al radiațiilor albastre-violete. În cazul cînd extractul este mai diluat, aceste benzi de absorbție sînt mai înguste decît atunci cînd acesta este mai concentrat (fig. 3.5). Prezența benzilor de absorbție se explică prin faptul că radiațiile de lumină care ajung la fanta spectroscopului, trec în prealabil prin stratul de extract de pigmenți din cuvă; pigmenții asimilatori absorb anumite radiații din spectrul solar și, ca rezultat, în locul radiațiilor absorbite apar benzi, cu atît mai închise la culoare cu cît absorbția lor este mai puternică.

Determinarea spectrului de absorbție a extractului de pigmenți asimilatori se poate face cu ajutorul unui spectrofotometru, conform proce-

deului descris în paragraful 10.4.2. Pentru determinarea spectrului de absorbție a fiecărui pigment în parte, se utilizează un extract de pigmenți în acetonă 80%, obținut prin procedeul descris în paragraful 3.2.1 a, din care se separă pigmenții după procedeul descris în paragraful 3.2.3.1 b, după care se recurge la unul dintre procedeele spectrofotometrice descrise în paragraful 10.4. În cazul cînd se lucrează cu spectrofotometrul Specol 10, citirea valorilor extincției trebuie făcută din 10 în 10 nm. Pe baza datelor obținute se poate reprezenta grafic spectrul de absorbție al fiecărui pigment în parte, notînd pe ordonată valorile extincției și pe abscisă lungimea de undă.

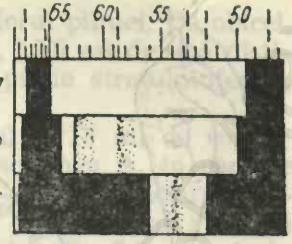


Fig. 3.5. Spectrele de absorbție ale extractelor alcoolice de pigmenți asimilatori, în funcție de concentrația lor (după Skazkin și colaboratorii):
a — la extractele de concentrație slabă; b — la extractele de concentrație mijlocie; c — la extractele cu concentrație mare.

c. *Fotooxidarea clorofilelor.* Se pun în două eprubete uscate cîte 5 ml de extract alcoolic de pigmenți asimilatori, pregătit după procedeul descris în paragraful 3.2.1 b, și se așază una dintre eprubete la lumină, iar cealaltă se pune la întuneric. După cîteva zile se va putea constata că extractul care a fost ținut la lumină se brunifică, iar cel din eprubeta ținută la întuneric își păstrează culoarea verde. Brunificarea extractului ținut la lumină se datorește oxidării pigmenților clorofilieni sub acțiunea luminii.

3.2.3. SEPARAREA PIGMENȚILOR ASIMILATORI

Procedeele de separare a pigmenților asimilatori se împart în două grupe: procedee bazate pe separarea lor cu ajutorul solvenților organici și procedee cromatografice.

Procedeele de separare cu ajutorul solvenților se bazează pe folosirea unor solvenți specifici pentru anumite grupe de pigmenți sau pentru fiecare pigment în parte.

Procedeele cromatografice se bazează pe capacitatea pigmenților asimilatori de a fi adsorbiți în mod diferit de către anumite substraturi.

3.2.3.1. Separarea pigmenților asimilatori cu ajutorul solvenților organici

Pentru separarea pigmenților asimilatori cu ajutorul solvenților organici, se utilizează, mai frecvent, următoarele procedee:

a. *Separarea pigmenților verzi de cei galbeni.* Se pun într-o eprubetă uscată 5 ml de extract alcoolic de pigmenți asimilatori, obținut prin procedeul descris în paragraful 3.2.1 b, și se adaugă peste el 2—3 ml de benzol sau benzină și cîteva picături de apă, după care se agită bine conținutul eprubetei. Lăsînd eprubeta în repaus, într-un stativ, se va constata că se separă două faze: în epifază (faza din partea de sus), de culoare verde, se vor găsi clorofilele *a* și *b*, iar în hipofază se vor găsi pigmenții galbeni (catotina și xantofila).

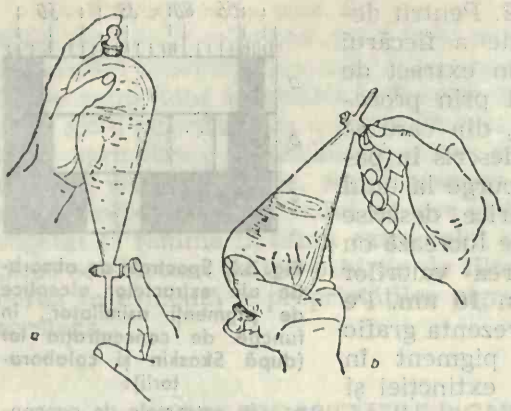


Fig. 3.6. Modul de manevrare a pîlniei de separație în cursul operațiilor de separare a pigmenților asimilatori cu ajutorul solvenților organici (după Machlis și Torrey):

a — în timpul mișcărilor de răsturnare a pîlniei se ține dopul și robinetul acesteia pentru a evita vărsarea conținutului ei; b — după cîteva mișcări de răsturnare, se deschide robinetul pîlniei (ținînd-o în poziție inversă) pentru a înlătura presiunea gazelor formate în interior, după care se așază pîlnia în inelul unui stativ și se așteaptă pînă se separă fazele.

b. *Separarea totală a pigmenților asimilatori.* Pentru separarea pigmenților asimilatori pe baza diferențelor lor de solubilitate în anumiți solvenți organici, se pregătește (conform procedeului descris în paragraful 3.2.1 a) un extract acetonic de pigmenți, folosind 2,5 g de frunze de spanac sau de lucernă, proaspete și 40 ml de acetonă 80%. Cu extractul obținut se efectuează următoarele operații:

— Se pun într-o pîlnie de separare 25 ml de eter de petrol și se adaugă peste el 20 ml de extract acetonic de pigmenți, după care se astupă pîlnia cu dopul și se agită ușor conținutul ei, prin mișcări de răsturnare, respectînd recomandările din figura 3.6. Se adaugă apoi în pîlnie 35 ml de apă distilată, care se lasă să se prelingă pe peretele pîlniei, după care se agită din nou conținutul ei și se lasă pîlnia în repaus pînă cînd lichidul din interiorul ei se separă bine în două straturi. După separarea straturilor, se înlătură prin deschiderea robinetului pîlniei, stratul inferior hidroacetonic și se păstrează în pîlnie stratul superior, de culoare verde, care conține toți pigmenții asimilatori în eter de petrol.

— Se spală de trei ori eterul de petrol, care conține pigmenții asimilatori, prin adăugarea în pîlnie, la fiecare spălare, a cîte 25 ml de apă distilată. După adăugarea fiecărei fracțiuni de apă distilată se agită conținutul pîlniei, ca în figura 3.6, și apoi se lasă pîlnia în repaus ca să se separe straturile de lichid, iar după separarea acestora se înlătură hipofaza (apa).

— După spălarea eterului de petrol, se adaugă în pîlnie 25 ml de alcool metilic 92%, se agită conținutul ei ca în figura 3.6 și apoi se lasă pîlnia în repaus ca să se separe straturile. După separarea straturilor, se trece stratul inferior într-un pahar Berzelius. Această soluție, care reprezintă fracțiunea A, conține, în alcool metilic, clorofila *b* și xantofila[1]. Stratul superior, care reprezintă fracțiunea B și conține în eterul de petrol clorofila *a* și carotina, se trece într-un alt pahar Berzelius.

— Se pun 25 ml de soluție din fracțiunea A într-o altă pîlnie de separație, se adaugă peste ea 25 ml eter etilic și se agită pîlnia după procedeul reprezentat în figura 3.6. După agitare, se adaugă în pîlnie, de mai multe ori, cîte 2,5 ml de apă distilată și se agită conținutul pîlniei după adăugarea fiecărei fracțiuni de apă, repetînd aceste operații pînă

[1] Întrucît alcoolul metilic este otrăvitor, în timpul acestor operații trebuie evitată, pe cît este posibil, inhalarea vaporilor lui.

cînd se separă net două straturi de lichid în interiorul pîlniei. De obicei, pentru separarea straturilor sînt necesari, în total, 12,5 ml de apă distilată. După separarea straturilor, se înlătură din pîlnie stratul inferior, care conține alcool metilic.

— Se pun într-un cilindru de sticlă (cilindrul I) 15 ml de soluție din pîlnia de separare (soluție care reprezintă fracțiunea A, în care se găsesc în eter etilic clorofila *b* și xantofila) și într-un alt cilindru de sticlă (cilindrul II) 15 ml de soluție din fracțiunea B (care conține clorofila *a* și carotina), după care se adaugă în ambii cilindri cîte 7,5 ml soluție de KOH 30%, proaspăt pregătită în alcool metilic, lăsînd-o să se prelingă încet pe pereții cilindrilor, după care se agită puternic conținutul lor și se lasă cilindrii în repaus timp de 10 minute. După trecerea acestui interval de timp, se adaugă în fiecare cilindru cîte 15 ml de apă distilată, se agită bine conținutul lor și se lasă din nou cilindri în repaus. Se va constata că în ambii cilindri se vor separa două straturi: în cilindrul I, în stratul superior, de culoare verde se va găsi clorofila *b*, iar în cel inferior, de culoare galbenă, xantofila; în cilindrul II, în stratul superior, de culoare verde, se va găsi clorofila *a*, iar în stratul inferior, de culoare portocalie, carotina.

Soluțiile care conțin acești pigmenți, se pot separa, cu ajutorul unei pîlnii de separare, în eprubete destinate pentru fiecare pigment în parte și pot fi utilizate pentru determinarea spectrelor lor de absorbție, cu ajutorul unui spectrofotometru, conform procedeelor descrise în paragraful 10.4.

3.2.3.2. Separarea pigmenților asimilatori prin cromatografie pe hîrtie

Se pregătește un extract acetonic de pigmenți asimilatori, conform prodedeului descris în paragraful 3.2.1. a. Pentru separarea pigmenților din acest extract, se ia o fișie de hîrtie de filtru, cu dimensiunile de 2×20 cm, tăiată astfel ca fibrele de celuloză din compoziția ei să fie orientate paralel cu latura ei lungă[1] și se trasează, cu ajutorul unei pipete Pasteur, folosind o riglă, o dîră de extract, la o distanță de circa 2 cm de la una din extremitățile ei, luînd în considerare laturile ei mici. După uscarea porțiunii pe care s-a trasat dunga de extract de pigmenți, se repetă această operație de 15—20 de ori, pentru a concentra pigmenții pe linia de start. Uscarea hîrtiei se face prin agitarea ei în aer, iar controlul uscării se face privind hîrtia prin transparență. În momentul cînd dîra de extract s-a uscat, hîrtia prezintă în zona respectivă aceeași transparență ca pe tot restul suprafeței ei.

După concentrarea pigmenților pe linia de start, se ia un cilindru de sticlă, se introduce în el un strat de 1,5—2 cm de solvent (pregătit prin

[1] Pentru stabilirea sensului în care sînt orientate fibrele de celuloză în hîrtia de filtru, înainte de tăierea fîșiei se depune pe coala din care urmează să fie decupată, o picătură de apă distilată și se urmărește în ce direcție se va întinde mai mult. După stabilirea acestei direcții, se taie din coală fișia de hîrtie astfel ca latura ei lungă să fie paralelă cu direcția în care picătura de apă distilată s-a întins mai mult.

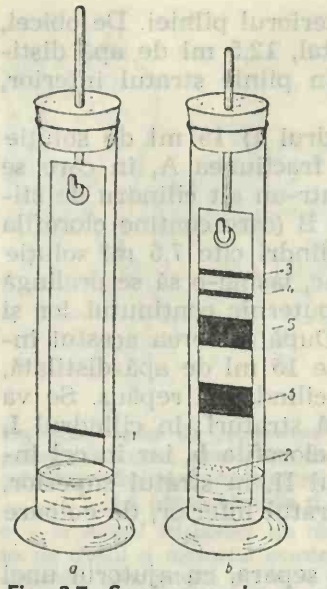


Fig. 3.7. Separarea pigmenților asimilatori pe cale cromatografică:

a – stadiul inițial, cu hîrtia de filtru, pe care s-a trasat dîra de pigmenți, suspendată deasupra solventului din cilindru; b – stadiul final, cu pigmenții separați după introducerea extremității inferioare a hîrtiei de filtru în solvent; 1 – dîra de pigmenți depuși pe hîrtia de filtru; 2 – urmele dîrei de pigmenți, rămase după antrenarea pigmenților de către solvent; 3 – carotina; 4 – xantofila; 5 – clorofila *a*; 6 – clorofila *b*.

amestecarea a 85 ml de eter de petrol cu 10 ml de acetonă și 5 ml de benzen) și se introduce hîrtia de filtru în cilindru, agățînd-o de cîrligul baghetei care străbate dopul acestuia, astfel ca să rămînă suspendată deasupra solventului, după astuparea cilindrului cu dopul (fig. 3.7 a). După 30 de minute, timp în care aerul din cilindru se saturează cu vaporii solventului, se împinge bagheta prin dopul cilindrului, pînă cînd extremitatea inferioară a hîrtiei de filtru ajunge în solvent pe o distanță de 0,5 cm și se lasă cilindrul în repaus, pînă cînd solventul ajunge aproape de extremitatea superioară a hîrtiei. În timpul migrării prin hîrtia de filtru, solventul antrenează pigmenții de pe linia de start și, datorită gradului lor diferit de adsorbție, îi separă (fig. 3.7 b). La partea superioară a hîrtiei de filtru (în zona în care a ajuns frontul solventului) se va găsi carotina, marcată printr-o zonă de culoare portocalie. Sub această zonă se va găsi xantofila, într-o zonă de culoare galbenă. Mai jos se va găsi clorofila *a*, într-o zonă de culoare verde-albăstruie, iar sub aceasta clorofila *b*, într-o zonă de culoare verde-gălbuie.

3.2.4. DETERMINAREA CANTITATIVĂ A PIGMENȚILOR ASIMILATORI

Pentru determinarea cantității diferiților pigmenți asimilatori se utilizează diferite procedee colorimetrice și procedee spectrofotometrice.

3.2.4.1. Determinarea pigmenților clorofilieni prin procedee colorimetrice

Dintre procedeele colorimetrice, pentru determinarea cantității de pigmenți clorofilieni se pot utiliza procedeul bazat pe folosirea comparatorului, procedeul bazat pe folosirea colorimetrului Dubosq și procedeul bazat pe determinarea concentrației extractului de cercetat cu ajutorul unui fotoelectrocolorimetru FEK-M.

3.2.4.1.1. Determinarea colorimetrică a pigmenților clorofilieni cu ajutorul comparatorului

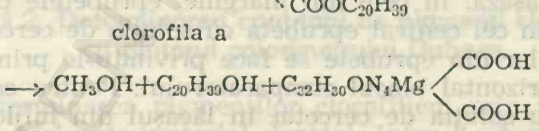
Procedeul se bazează pe compararea culorii extractului de pigmenți clorofilieni din frunzele plantelor cu cea a unei serii de soluții etalon, cu concentrațiile cunoscute, preparate dintr-o soluție standard.

Modul de lucru. Pentru obținerea pigmenților verzi din frunzele utilizate la determinări, se cîntărește într-o fiolă o cantitate de 2—3 g, determinată precis, de frunze proaspete (lotul a) și, în paralel, o altă cantitate de frunze (lotul b). Frunzelor din lotul b li se determină masa uscată, conform procedeului descris în paragraful 1.3.3.6, iar frunzele din lotul *a* servesc la extragerea pigmenților clorofilieni.

Pentru extragerea pigmenților, frunzele din lotul *a* se mărunțesc într-un mojar cu o cantitate mică (de 2—3 ml) de alcool etilic 96% și soluția ce se obține se scurge într-un balon de sticlă, printr-o pîlnie în care s-a pus o hîrtie de filtru. Se continuă apoi mojararea materialului vegetal, procedînd în același mod de mai multe ori, pînă cînd materialul vegetal își pierde culoarea verde. Extractul obținut se trece cantitativ, după ce hîrtia de filtru din pîlnie a fost decolorată prin spălări repetate cu cantități mici de alcool, într-o pîlnie de separație, spălînd și balonul cu o cantitate mică de alcool care se toarnă tot în pîlnia de separație. La extractul alcoolic astfel obținut se adaugă 30 ml de eter de petrol și 50 ml de apă distilată, după care se agită bine conținutul pîlniei, respectînd recomandările din figura 3.6 și se lasă pîlnia în repaus. Se vor separa două straturi de lichid. Clorofilele trec în stratul superior de eter de petrol, iar stratul inferior se îndepărtează prin deschiderea robinetului pîlniei. Extractul de clorofile rămas în pîlnia de separare se spală de patru ori, adăugînd de fiecare dată cîte 50 ml de apă distilată. După fiecare adăugare de apă se agită conținutul pîlniei și apoi se lasă pîlnia în repaus ca să se separe fazele, după care se înlătură hipofaza. După spălare se adaugă la extractul de clorofile 5 ml dintr-o soluție de KOH 30%, preparată proaspăt în alcool metilic, pentru saponificarea clorofilelor. Se agită bine conținutul pîlniei și se lasă în repaus. Se vor separa două straturi, dintre care cel inferior, care conține sarea de potasiu a clorofilinelor (forma saponificată a clorofilelor) se toarnă într-un balon cotat de 100 ml și se completează cu alcool etilic pînă la semn[1]. Din această soluție se iau 10 ml pentru colorimetrare cu ajutorul comparatorului.

---

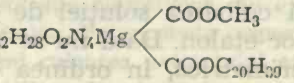
[1] Reacția de saponificare a clorofilelor în prezența KOH constă în descompunerea clorofilelor *a* și *b* în alcool metilic, alcool fitilic (fitol) și acid clorofilinic *a* și *b* (clorofilină *a* și *b*). În cazul clorofilei *a*, reacția se desfășoară după următoarea schemă:



clorofila a

alcool metilic — fitol — clorofilina a

În continuare atomii de hidrogen de la grupările acide ale clorofilinei *a* sînt înlocuiți cu atomii de metal ai bazei formînd sarea de potasiu a clorofilinei *a*. Reacția este aceeași și în cazul clorofilei *b*, care are formula brută



Întrucît alcoolul metilic este foarte toxic, este necesar ca în timpul operației de saponificare a clorofilelor să se evite, pe cît este posibil, inhalarea vaporilor lui.

TABELUL 3.1

Prepararea soluțiilor etalon pentru dozarea pigmenților clorofilieni pe cale colorimetrică

Numărul eprubetei	Soluție standard (ml)	Apă distilată (ml)	Concentrația de clorofile corespunzătoare (mg %)
1	10,00	—	8,5
2	9,41	0,59	8,0
3	8,23	1,77	7,0
4	7,05	2,95	6,0
5	5,88	4,12	5,0
6	4,70	5,30	4,0
7	3,52	6,48	3,0
8	2,35	7,65	2,0
9	1,17	8,83	1,0
10	1,06	8,94	0,9

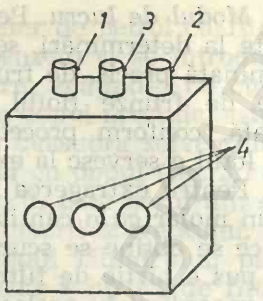


Fig. 3.8. Blocul comparator utilizat pentru determinarea cantității de pigmenți clorofilieni din organele de asimilație:

1 și 2 — eprubete cu soluții din scara etalon; 3 — eprubeta cu extractul de cercetat; 4 — orificiile prin care se privește pentru a compara intensitatea culorii soluțiilor din eprubete.

Pentru dozarea cantității de pigmenți clorofilieni din extractul pregătit este necesară prepararea unei soluții standard, care, după *J. D. Guthrie*, se obține prin amestecarea, într-un balon cotat de 100 ml, a 28,5 ml soluție de $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 1%, cu 30 ml soluție de $K_2Cr_2O_7$ 2% și cu 10 ml de soluție de NH_4OH 7% (reactivul nr. 23), după care se completează cu apă distilată pînă la semn. Culoarea acestei soluții standard corespunde unei soluții care conține 8,5 mg clorofilă la 100 ml de solvent.

Din soluția standard se pregătește o scară colorimetrică, punînd într-o serie de 10 eprubete, uscate și cu același diametru, soluție standard și apă distilată, în cantitățile menționate în tabelul 3.1.

După pregătirea scării etalon se trece la colorimetrare cu ajutorul blocului comparator. Acesta este confecționat dintr-o bucată de lemn, de formă paralelipipedică (fig. 3.8) și prezintă trei lăcașuri în plan vertical, în care se așază, în cele din margine, eprubetele cu soluțiile din scara etalon, iar în cel central eprubeta cu soluția de cercetat. Compararea culorii soluțiilor din eprubete se face privindu-le prin orificiile care străbat în plan orizontal blocul comparatorului. Pentru colorimetrare se așază eprubeta cu soluția de cercetat în lăcașul din mijloc al comparatorului și se aleg din scara colorimetrică două eprubete alăturate, care au o culoare apropiată de cea a soluției de cercetat și se așază cea cu soluția mai puțin concentrată în orificiul din stînga, iar cealaltă în cel din dreapta în blocul comparator. Se compară culorile soluțiilor, privind eprubetele prin orificiile ce străbat blocul comparatorului în plan vertical și se stabilește dacă culoarea soluției de cercetat se încadrează sau nu între culorile soluțiilor etalon. Dacă nu se încadrează, se iau alte două eprubete din scara colorimetrică, în ordinea crescîndă sau descrescîndă a concentrației, după caz și se repetă aceste operații pînă se stabilește între care dintre eprubetele scării etalon se încadrează culoarea soluției de cercetat.

După încadrare, cantitatea de clorofile din materialul vegetal se calculează pe baza următoarelor raționamente:

— Dacă, de pildă, culoarea extractului de cercetat a fost cuprinsă între culorile soluțiilor din eprubetele nr. 6 și 7 din scara etalon, cărora le corespund 4 și respectiv 3 mg clorofile la 100 ml soluție, se face media acestor valori și rezultă că soluția de cercetat conține 3,5 mg clorofile în 100 ml de solvent[1]. Cunoscînd masa materialului vegetal proaspăt (A) din care s-au extras pigmenții clorofilieni, cantitatea de pigmenți, exprimată în mg clorofile/g substanță proaspătă, se calculează prin următoarea regulă de trei simplă:

Dacă la A g de material vegetal corespund 3,5 mg clorofile.

La 1 g vor corespunde . . . . . x mg

De unde $x = \frac{3,5 \cdot 1}{A}$ = mg clorofile/g substanță proaspătă

— Dacă raportarea se face la substanța uscată, se calculează cantitatea de substanță uscată din materialul vegetal din care s-a făcut extragerea pigmenților, folosind formula:

$$m = \frac{N \cdot B}{C},$$

în care:

m = masa în stare uscată a materialului vegetal din care s-au extras pigmenții (în g);

N = masa în stare uscată a materialului vegetal din lotul b, pus la uscat pînă la masă constantă (în g);

C = masa materialului vegetal proaspăt din lotul b, pus la uscat pînă la masă constantă (în g);

B = masa materialului vegetal proaspăt din care s-au extras pigmenții clorofilieni (în g).

Cunoscînd masa în stare uscată a materialului vegetal din care s-au extras pigmenții clorofilieni, cantitatea acestora se poate calcula (în mg clorofile / g substanță uscată) printr-o regulă de trei simplă, ca în exemplificarea precedentă.

3.2.4.1.2. Determinarea cantității de pigmenți clorofilieni cu ajutorul colorimetrului Dubosq

Pentru determinarea pigmenților clorofilieni prin acest procedeu se cîntăresc două probe de material vegetal, între 2—3 g, dintre care una va servi la stabilirea masei uscate a probei de cercetat, iar cealaltă la extragerea pigmenților clorofilieni și se pregătește o soluție standard

---

[1] Uneori culoarea extractului poate să corespundă cu culoarea uneia din soluțiile etalon. În acest caz concentrația clorofilelor din extract va fi egală cu cantitatea care corespunde soluției etalon din eprubeta respectivă.

De asemenea, în cazul cînd culoarea extractului este mai intensă decît cea a soluțiilor etalon din scară, se diluează extractul cu alcool la jumătate, după care se reia colorimetrarea, iar rezultatul obținut se înmulțește cu 2 pentru a se obține cantitatea reală de clorofile din soluția de analizat.

Guthrie, efectuînd aceste operații după procedeele descrise în paragraful 3.2.4.1.1. Concentrația extractului de analizat se determină cu un colorimetru Dubosq, conform procedeului prezentat în paragraful 10.3.1, iar cantitatea de pigmenți clorofilieni din materialul vegetal analizat se calculează după raționamentele prezentate în paragraful 3.2.4.1.1.

3.2.4.1.3. Determinarea cantității de pigmenți clorofilieni cu ajutorul fotoelectrocolorimetrului

Pentru determinarea pigmenților clorofilieni prin acest procedeu se cîntăresc două probe de material vegetal, cu masa cuprinsă între 2—3 g, dintre care una va servi la stabilirea masei uscate a probei din care se face extragerea pigmenților clorofilieni, a căror concentrație se află cu ajutorul unei soluții standard Guthrie. Toate operațiile necesare efectuării determinării se desfășoară după indicațiile date în paragraful 3.2.4.1.1, cu excepția modului de lucru cu fotoelectrocolorimetrul FEK-M, care este prezentat în paragraful 10.3.2. După determinarea concentrației extractului de pigmenți din proba de cercetat, cantitatea de pigmenți clorofilieni din materialul vegetal se calculează după raționamentele prezentate în paragraful 3.2.4.1.1.

3.2.4.2. Dozarea pigmenților asimilatori pe cale spectrofotometrică

Pentru determinare se ia un vas Kitassato, se introduce în el un cilindru gradat cu capacitatea de 25 ml, se astupă vasul cu un dop în care este fixată o pîlnie cu masă filtrantă G_4, astfel ca extremitatea ei inferioară să pătrundă în gîtul cilindrului gradat (fig. 3.9). Se așază peste filtrul G_4 o rondelă de hîrtie de filtru cu suprafața egală cu a acestuia și se racordează, prin intermediul unui tub de cauciuc, vasul Kitassato la o trompă de apă, fixată la robinetul conductei de apă.

După pregătirea instalației, se cîntăresc cu precizie două probe de material vegetal, cu masa cuprinsă între 0,1—0,2 g. Una dintre aceste probe (lotul *a*) va servi la extragerea pigmenților asimilatori, iar cealaltă (lotul *b*) se introduce într-un termostat și se usucă pînă la masă constantă, conform procedeului descris în paragraful 1.3.3.6. Proba care reprezintă lotul *a* se introduce într-un mojar, în care se adaugă puțin nisip de cuarț și aproximativ 0,1 g, dintr-un amestec, în părți egale, de $CaCO_3$ și $MgCO_3$ (sub formă de pulbere), pentru împiedicarea transformării clorofilelor în feofitine, prin înlocuirea atomului de Mg din molecula lor cu atomi de H, în cazul cînd materialul are o reacție (*p*H) acidă. Se adaugă apoi în mojar 2—3 ml de acetonă 85% și se mojarează bine materialul vegetal, după care se pune în funcțiune trompa de apă și se trece lichidul din mojar în pîlnia cu filtrul G_4. La turnarea extractului de pigmenți în pîlnie pistilul mojarului trebuie așezat deasupra pîlniei în dreptul ciocului acestuia, după care se înclină mojarul încet, pînă cînd se golește de extract. În acest fel se evită eventuala pierdere a unei părți din extract, prin prelingerea lui pe peretele extern al mojarului. În continuare se toarnă peste materialul vegetal rămas în mojar o nouă cantitate de 2—3 ml de acetonă și se mojarează din nou, repetînd

aceste operații pînă cînd acetona adăugată nu se mai colorează. În acest moment se spală bine pistilul și mojarul cu puțină acetonă, care se trece, de asemenea, în pîlnia cu filtrul G_4 și se spală apoi hîrtia de filtru din pîlnie, turnînd peste ea cantități mici de acetonă, pînă cînd, în timpul trecerii ei în cilindrul gradat, ea devine incoloră. În timpul acestor operații trebuie avut grijă ca volumul total al filtratului să nu depășească 25 ml. După obținerea extractului de pigmenți se închide trompa de apă, se scoate dopul vasului Kitassato, se scoate cilindrul gradat din el și se completează conținutul lui pînă la 25 ml, prin adăugare de acetonă 85%, după care se omogenizează bine prin agitare.

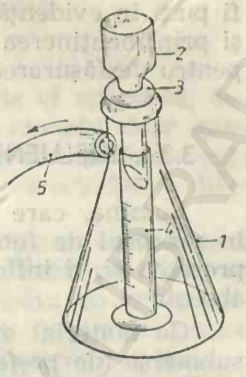


Fig. 3.9. Instalația pentru filtrarea extractului de pigmenți asimilatori, în vederea dozării lor pe cale spectrofotometrică:
1 — vas Kitassato; 2 — pîlnie cu filtru G_4; 3 — dop de cauciuc; 4 — cilindru gradat; 5 — racordul la trompa de apă (săgeata indică sensul curentului de aer prin instalație în timpul filtrării).

În continuare se determină, folosind cuva de 1 cm, extincțiile extractului la lungimile de undă de 440,5 nm ($E_{440,5}$), 662 nm (E_{662}) și la 664 nm (E_{664}), la un spectrofotometru Spekol 10, după procedeul prezentat în paragraful 10.4.1.

Cantitatea de pigmenți din proba de cercetat se calculează cu ajutorul formulelor:

— clorofila a (în mg)$=(E_{662}\cdot 9{,}78)-(E_{664}\cdot 0{,}99)$

— clorofila b (în mg)$=(E_{664}\cdot 21{,}4)-(E_{662}\cdot 4{,}65)$

— pigmenții carotenoizi (în mg)$=(E_{440,5}\cdot 4{,}69)-$
$-$(clorofilele a$+$b$\cdot 0{,}267$)

Întrucît aceste formule au fost date (de G. Holm, 1954) pentru un litru de extract de pigmenți, cantitatea de pigmenți asimilatori din proba analizată se află introducînd, pentru fiecare pigment în parte, valoarea obținută prin calcul, în relația:

$$\frac{\text{mg pigmenți}}{1\,000}\cdot 25,$$

în care 25 reprezintă volumul extractului de pigmenți obținut din materialul vegetal analizat.

Raportarea rezultatului obținut la masa proaspătă și uscată a probei cercetate se face cu ajutorul raționamentelor prezentate în paragraful 3.2.4.1.1.

3.3. INFLUENȚA FACTORILOR EXTERNI ASUPRA FOTOSINTEZEI

Dintre factorii mediului extern fotosinteza este influențată puternic de lumină, care intervine asupra acestui proces fiziologic atît prin intensitatea ei cît și prin compoziția sa spectrală, de concentrația dioxidului de carbon și de temperatură.

Întrucît variațiile intensității fotosintezei depind de rezultanta acțiunii concomitente a acestor factori, variabili și ei în ceea ce privește amplitudinea lor, influența pe care o manifestă asupra fotosintezei poate

fi pusă în evidență doar prin modificarea, separat, a cîte unuia dintre ei și prin menținerea celorlalți la o valoare constantă, de preferință optimă pentru desfășurarea procesului.

3.3.1. INFLUENȚA INTENSITĂȚII LUMINII ASUPRA FOTOSINTEZEI

Lumina, care este sursa de energie utilizată de plantele fototrofe în procesul de fotosinteză, declanșează desfășurarea acestui proces prin prezența ei, îl influențează puternic prin intensitatea ei și îl întrerupe în absența ei.

Ca material experimental, se recurge la ramuri de plante acvatice submerse (de preferință de *Elodea canadensis*), care, pentru determinări, se secționează oblic, cu o lamă de ras, astfel ca să aibă o lungime de 6—10 cm. Ramurile pregătite, în număr de 3—5, se introduc cu vîrful în jos în cîte o eprubetă umplută cu apă, avînd grijă ca suprafața lor de secțiune să nu se atingă de pereții eprubetelor (v. figura 3.3). Se introduc eprubetele cu ramurile astfel pregătite într-un stativ și se așază la lumina unui bec electric de 60—100 W, la o distanță de 20 de cm de acesta, lăsîndu-le în această poziție pînă cînd încep să degaje bule de oxigen. Pentru experimentări se va alege o ramură care degajă un număr constant de bule, cuprins între 20—40 pe minut, stabilit prin numărători succesive.

Evidențierea influenței manifestate de intensitatea luminii asupra intensității fotosintezei se face așezînd eprubeta cu ramura aleasă pentru determinări, într-un stativ, la distanțe diferite față de sursa de lumină: la început la 10 cm, apoi la 20 cm, 40 cm, 60 cm și 80 cm. Se numără la fiecare din distanțele menționate bulele de oxigen degajate de ramură într-un minut, pînă cînd numărul lor devine constant și se notează acest număr, care reprezintă intensitatea fotosintezei exprimată în număr de bule/minut, la iluminarea respectivă, într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 3.2.

În cazul cînd pe parcursul determinărilor degajarea de bule de către ramură începe să manifeste dereglări sau încetează, întregul experiment trebuie reluat cu o nouă ramură. Continuarea lui cu o altă ramură nu este permisă, întrucît în acest caz se ivește riscul denaturării rezultatelor, din cauza faptului că numărul și volumul bulelor degajate diferă de la o ramură la alta.

Rezultatele obținute se reprezintă și grafic, notînd pe ordonată intensitatea fotosintezei (exprimată în număr de bule/minut), iar pe abscisă distanța față de sursa de lumină (în cm). Curba obținută va evidenția faptul că cu cît distanța față de sursa de lumină va fi mai mare, deci iluminarea va fi mai slabă (deoarece intensitatea luminii scade direct proporțional cu patratul distanței), cu atît intensitatea fotosintezei va fi mai redusă. Rezultatele cele mai concludente se obțin în cazul cînd determinările se efectuează în camera obscură, deoarece în aceste condiții fotosinteza nu poate fi influențată de lumina naturală, care intervine pe lîngă cea furnizată de becul electric.

TABELUL 3.2

Influența intensității luminii asupra intensității fotosintezei la . . . . .

Distanța față de sursa de lumină (cm)	Intensitatea fotosintezei (număr de bule/minut)

3.3.2. INFLUENȚA COMPOZIȚIEI SPECTRALE A LUMINII ASUPRA FOTOSINTEZEI

Lumina influențează fotosinteza și prin compoziția ei spectrală, deoarece dintre radiațiile spectrului solar plantele pot absorbi doar anumite radiații, în conformitate cu spectrul de absorbție al fiecărui pigment în parte din garnitura de pigmenți asimilatori, caracteristică diferitelor grupe de plante fototrofe.

Evidențierea influenței diferitelor radiații ale spectrului solar asupra intensității fotosintezei se poate face cu ajutorul unor filtre de sticlă, de material plastic de consistența celuloidului sau de celofan de bună calitate, colorate în cele 7 culori ale spectrului solar, sau cu ajutorul unor soluții colorate, ale căror culori corespund culorilor spectrului solar.

a. *Procedeul bazat pe utilizarea filtrelor.* Pentru determinare se folosesc ramuri de plante acvatice submerse (de preferință de *Elodea canadensis),* pregătite după procedeul prezentat în paragraful 3.3.1. Dintre acestea se ia o ramură care degajă un număr constant de bule de oxigen pe minut (cuprins între 20—40), se așază eprubeta în care se găsește într-un stativ și se intercalează pe rînd, între ea și sursa de lumină (reprezentată printr-un bec de 60—100 W) filtrele de sticlă, colorate în cele 7 culori ale spectrului solar[1], după care se numără, în lumina care este transmisă prin fiecare filtru, bulele degajate într-un minut. În cazul cînd se dispune de filtre din material plastic de consistența celuloidului sau de filtre din celofan, este recomandabil să se înfășoare, într-un singur strat, eprubeta cu ramura în filtrele respective, pentru a evita acțiunea perturbantă a luminii policrome, care cade asupra eprubetei din părțile laterale și din cea opusă direcției din care vine lumina de la bec.

Filtrele utilizate trebuie să fie cît mai selective, adică trebuie să rețină în cea mai mare parte radiațiile spectrului care diferă de culoarea lor. Este recomandabil ca înainte de experimentări să se verifice, din acest punct de vedere, calitatea filtrelor, prin determinarea spectrului lor de transmisie, la un spectrofotometru cu înregistrare automată. De asemenea, este necesar ca în fiecare din luminile monocromatice utilizate să se asigure o iluminare de intensitate egală a ramurii în timpul determinărilor. În acest scop se recomandă ca, înainte de efectuarea determinărilor, să se stabilească cu ajutorul unui luxmetru, începînd cu filtrul cel mai puțin transparent, iluminarea care se obține la o distanță de 5—10 cm de bec, după ce pe celula luxmetrului s-a aplicat filtrul respectiv. Se notează intensitatea luminii transmise și distanța față de bec, la care s-a aflat celula luxmetrului cu filtrul aplicat pe suprafața ei și apoi se stabilesc, în același mod, distanțele față de bec, la care celelalte filtre lasă să treacă prin ele lumini de aceeași intensitate cu cea transmisă de filtrul cel mai puțin transparent. Se notează aceste distanțe într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 3.3. În afara acestor determinări, se mai măsoară și distanța la care în lumina directă a becului se obține o iluminare egală cu cea transmisă prin filtre.

Determinările se încep numai după ce ramura, așezată în lumina directă a becului la distanța stabilită, ajunge să degaje un număr constant

[1] La determinări este absolut obligatorie folosirea filtrelor de culoare albastră, verde și roșie, în cazul cînd nu se dispune de filtre corespunzătoare tuturor radiațiilor monocromatice ale spectrului solar.

TABELUL 3.3

Influența compoziției spectrale a luminii asupra intensității fotosintezei la . . . . .

Radiațiile spectrului solar	Domeniul lungimilor de undă pe care se etalează (nm)	Distanța față de bec (cm)	Intensitatea fotosintezei (număr de bule/minut)

de bule pe minut, care se notează pentru control. La determinări, se mută apoi stativul cu eprubeta care conține ramura, la distanța stabilită pentru fiecare filtru în parte și, intercalînd între ramură și bec filtrul corespunzător, se numără bulele degajate pe minut, pînă cînd numărul lor devine constant, după care se notează rezultatul obținut în tabel. Pentru a exercita un control asupra desfășurării normale a fotosintezei în timpul determinărilor, este necesar ca după determinarea numărului de bule degajate în fiecare din luminile monocromatice, să se așeze eprubeta cu ramura în lumina directă a becului, la distanța stabilită, după care se numără bulele degajate pe minut și nu se va trece la determinarea intensității fotosintezei în lumina monocromatică următoare decît în momentul în care ramura va degaja constant un număr de bule pe minut, egal cu cel stabilit la determinarea inițială în lumina directă a becului. Toate datele obținute se trec în tabelul întocmit după modelul prezentat în tabelul 3.3, iar rezultatele obținute se reprezintă și grafic, notînd pe ordonată intensitatea fotosintezei (în număr de bule/minut), iar pe abscisă radiațiile spectrului, în ordinea crescîndă a lungimii lor de undă (în nm), la distanțe care corespund mediei limitelor lungimilor de undă pe care se etalează radiațiile respective[1].

În cazul cînd în cursul determinărilor degajarea de bule de către ramură începe să manifeste dereglări sau încetează, întreaga serie de determinări trebuie reluată cu o nouă ramură. Nu este permisă continuarea determinărilor cu o altă ramură, întrucît în acest caz se ivește riscul obținerii unor rezultate eronate, din cauză că numărul și volumul bulelor degajate diferă de la o ramură la alta.

b. *Procedeul bazat pe utilizarea soluțiilor colorate.* Întrucît, spre deosebire de filtrele de fabricație specială, soluțiile colorate nu prezintă o selectivitate satisfăcătoare față de radiațiile spectrului solar, de culoare diferită de cea a soluțiilor respective, determinările referitoare la influența diferitelor radiații ale spectrului solar asupra intensității fotosintezei se fac numai pentru domeniul radiațiilor violete-albastre, pentru domeniul radiațiilor predominant verzi-portocalii și pentru domeniul radiațiilor roșii.

Pentru domeniul radiațiilor violet-albastre se va folosi o soluție de $CuSO_4$ 2%, amestecată cu o soluție de violet de gențiana 0,05%, în proporție de 39 părți la 1. În funcție de transparența acestui amestec de soluții se pregătește pentru domeniul radiațiilor predominant verzi-portocalii o soluție de $NiNO_3$, iar pentru domeniul radiațiilor roșii o soluție de roșu de metil (dizolvînd substanța în alcool etilic de 96%), astfel ca lumina care trece prin toate aceste soluții să fie de aceeași intensitate.

[1] Radiațiile violet se etalează între lungimile de undă de 395—455 nm, cele albastre între 455—490 nm, radiațiile verzi între 490—575 nm, cele galbene între 575—590 nm, radiațiile portocalii între 590—650 nm, iar cele roșii între 650—750 nm.

În acest scop, se ia un vas de formă paralelipipedică, cu capacitatea de circa 1 litru, avînd două dintre laturile bazei mai scurte, se pune în el amestecul de soluție de $CuSO_4$ și violet de gențiana, se așază la o distanță de 10—20 cm de sursa de lumină, reprezentată printr-un bec de 60—100 W și se măsoară, cu ajutorul unui luxmetru, intensitatea luminii transmise prin stratul de colorant, aplicînd celula luxmetrului pe fața opusă direcției din care vine lumina, pe peretele vasului; se notează intensitatea luminii transmise, după care se trece soluția într-un recipient de sticlă de culoare brună, cu dop rodat, care se păstrează la întuneric. Se spală vasul paralelipipedic și se trece la pregătirea soluției următoare. În acest scop se folosește o soluție concentrată de $NiNO_3$; din care se adaugă în apa, pusă în prealabil în vas, cantități mici, agitînd în acest timp conținutul vasului cu o baghetă, pînă cînd intensitatea luminii transmise, la aceeași distanță față de bec, va fi egală cu cea transmisă de soluția precedentă, după care se trece, respectînd același procedeu, la prepararea soluției de roșu de metil.

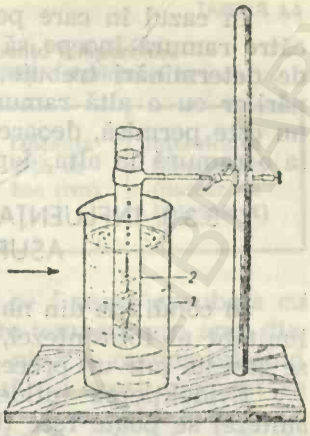


Fig. 3.10. Determinarea influenței diferitelor radiații ale spectrului solar asupra intensității fotosintezei:
1 — pahar Berzelius cu apă sau soluții colorate; 2 — eprubeta cu ramura, fixată la un stativ (săgeata arată direcția din care vine lumina de la bec).

Pentru determinarea influenței acestor domenii ale radiațiilor spectrului solar asupra intensității fotosintezei, se folosesc ramuri de plante acvative submerse (de preferință de *Elodea canadensis*), pregătite după procedeul prezentat în paragraful 3.3.1. Dintre acestea se alege una care degajă în mod constant un număr de bule cuprins între 20—40 pe minut și se introduce ca în fig. 3.10, cu eprubeta în care se găsește, într-un pahar Berzelius umplut cu apă și așezat la distanța de 20 cm față de bec, după care se numără bulele degajate pe minut și se notează numărul lor, cînd acesta a devenit constant, într-un tabel întocmit după modelul redat în tabelul 3.3. Se scoate apoi eprubeta cu ramura din pahar, se șterge de apă și se introduce într-un alt pahar Berzelius, de aceeași dimensiune și la aceeași distanță față de bec, în care s-a pus în prealabil amestecul de soluție de $CuSO_4$ și violet de gențiana, astfel ca ramura din eprubetă să fie în întregime sub nivelul colorantului. Se numără bulele degajate pe minut și se notează numărul lor în tabel, în momentul cînd acesta a devenit constant. După numărare, se scoate eprubeta din pahar, se șterge de colorant și se introduce din nou în paharul Berzelius cu apă (tot la distanța de 20 cm față de bec), după care se trece la numărătoarea bulelor degajate pe minut. În momentul cînd acesta a devenit constant și egal cu cel stabilit la începutul determinărilor, se trece eprubeta cu ramura în colorantul următor, respectînd procedeul descris anterior și se continuă aceste operații pînă se determină numărul de bule degajate în domeniile menționate ale spectrului solar.

Rezultatele obținute se reprezintă și grafic, notînd pe ordonată intensitatea fotosintezei (exprimată în număr de bule/minut), iar pe abscisă valoarea medie a lungimii de undă pe care se etalează domeniile în care s-au efectuat determinările (în nm).

În cazul în care pe parcursul determinărilor degajarea de bule de către ramură începe să manifeste dereglări sau încetează, întreaga serie de determinări trebuie reluată cu o altă ramură. Continuarea determinărilor cu o altă ramură. Continuarea determinărilor cu o altă ramură nu este permisă, deoarece numărul și volumul bulelor degajate diferă de la o ramură la alta, fapt ce ar duce la obținerea unor rezultate eronate.

3.3.3. INFLUENȚA CONCENTRAȚIEI DIOXIDULUI DE CARBON ASUPRA INTENSITĂȚII FOTOSINTEZEI

În condițiile din natură, dioxidul de carbon este un factor permanent limitant al fotosintezei, din cauza concentrației lui reduse (în atmosferă se găsește într-un procent de numai 0,03%).

Evidențierea influenței concentrației CO_2 asupra intensității fotosintezei se poate face ținînd, totdeauna la aceeași distanță față de sursa de lumină reprezentată de un bec electric de 60—100 W (de pildă la 20 sau 30 cm) o ramură de plantă acvatică submersă (de preferință de *Elodea canadensis*), pregătită după procedeul prezentat în paragraful 3.3.1, într-o eprubetă, în soluții de $NaHCO_3$ de concentrații diferite. Această substanță reprezintă o bună sursă de CO_2, deoarece prin disociere îl eliberează conform reacției:

$$2NaHCO_3 \longrightarrow CO_2 + Na_2CO_3 + H_2O$$

La determinări se folosesc succesiv soluții de $NaHCO_3$ cu concentrația de 0,1%, 0,5% și 1%. În fiecare din aceste soluții se numără bulele degajate pe minut, pînă cînd numărul lor devine constant. Rezultatele obținute se notează într-un tabel întocmit după modelul redat în tabelul 3.4 și se reprezintă și grafic, notînd pe ordonată intensitatea fotosintezei (exprimată în număr de bule/minut), iar pe abscisă concentrația CO_2 (exprimată prin concentrația soluțiilor de bicarbonat de sodiu).

În cazul cînd pe parcursul determinărilor degajarea de bule de către ramură începe să manifeste dereglări sau încetează, trebuie să se reia întreaga serie de determinări cu o ramură nouă. Continuarea determinărilor cu o altă ramură nu este permisă, deoarece se poate ajunge la obținerea unor rezultate eronate, din cauză că numărul și volumul bulelor degajate diferă de la o ramură la alta.

TABELUL 3.4

Influența concentrației dioxidului de carbon asupra intensității fotosintezei la . . . . .

Concentrația soluției de $NaHCO_3$ (%)	Distanța față de bec (cm)	Intensitatea fotosintezei (număr de bule/minut)

3.3.4. INFLUENȚA TEMPERATURII ASUPRA INTENSITĂȚII FOTOSINTEZEI

Temperatura modifică intensitatea fotosintezei prin influența pe care o manifestă asupra reacțiilor caracteristice mecanismului acestui proces fiziologic și prin acțiunea sa asupra viscozității celulelor asimilatoare.

Punerea în evidență a influenței acestui factor se face cu ajutorul unei ramuri a unei plante acvatice submerse (de preferință *Elodea canadensis*), pregătită după procedeul prezentat în paragraful 3.3.1. Eprubeta cu ramura aleasă, astfel ca să degaje în mod constant un număr de bule

cuprins între 20—40 pe minut, se introduce succesiv într-un pahar Berzelius, așezat la dinstanța de 20 cm față de sursa de lumină (reprezentată printr-un bec electric de 60—100 W), umplut cu apă la temperatura de 10°C, apoi de 20°C, de 30°C, de 40°C și de 50°C, astfel ca ramura și întreaga coloană de apă din eprubetă să se afle sub nivelul apei din pahar[1]. În timpul determinărilor se fixează eprubeta cu ramura la un stativ (ca în fig. 3.10) și se urmărește temperatura apei din eprubetă, controlînd-o periodic cu un termometru, pînă în momentul cînd aceasta a luat temperatura stabilită pentru lucru[2]. În acest moment se numără bulele degajate de ramură într-un minut și se notează într-un tabel, întocmit după modelul prezentat în tabelul 3.5. Rezultatele obținute se reprezintă și grafic, notînd pe ordonată intensitatea fotosintezei (exprimată în număr de bule/minut), iar pe abscisă temperatura (în °C).

TABELUL 3.5

Influența temperaturii asupra intensității fotosintezei la . . . . .

Temperatura apei (°C)	Distanța față de bec (cm)	Intensitatea fotosintezei (număr de bule/minut)

În cazul cînd pe parcursul determinărilor se constată dereglări în degajarea de bule de către ramură, întreaga serie de determinări trebuie reluată cu o ramură nouă. Continuarea determinărilor cu o altă ramură nu este permisă, întrucît se ivește riscul obținerii unor rezultate eronate, ca urmare a faptului că numărul și volumul bulelor de oxigen degajate diferă de la o ramură la alta.

3.4. INTENSITATEA FOTOSINTEZEI

Intensitatea fotosintezei se exprimă, în funcție de particularitățile materialului vegetal și de procedeele de determinare utilizate, fie prin cantitatea de CO_2 absorbit (în mg sau cm^3), prin cantitatea de O_2 degajat (în mg sau cm^3), fie prin cantitatea de substanțe organice produse (în mg) în unitatea de timp (care este ora), de unitatea de suprafață foliară, care este stabilită convențional la 1 dm^2.

În cazul cînd determinările se fac la suspensiile de alge unicelulare, intensitatea procesului se exprimă în mg sau cm^3 de O_2 degajat în unitatea de timp (o oră), de 1 gram de material vegetal proaspăt sau uscat, sau de un milion sau un miliard de celule.

3.4.1. PROCEDEE DE DETERMINARE A INTENSITĂȚII FOTOSINTEZEI

Pornind de la ecuația generală a fotosintezei

$$CO_2 + H_2O \xrightarrow[\text{(pigmenți asimilatori)}]{\text{lumină}} \text{substanțe organice} + O_2,$$

[1] Temperaturile situate sub cea a mediului înconjurător se realizează cu apă ținută în prealabil în frigider, iar cele peste temperatura mediului, cu apă încălzită pînă la valoarea temperaturii de lucru stabilite.

[2] În unele cazuri, pentru realizarea temperaturii de lucru în apa din eprubeta cu ramura, este necesară schimbarea periodică a apei din paharul Berzelius cu noi cantități de apă aflată la temperatura stabilită pentru lucru.

rezultă că intensitatea acestui proces fiziologic poate fi determinată după cantitatea de CO_2 absorbit, după cantitatea de O_2 degajat și după cantitatea de substanțe organice sintetizate. Intensitatea fotosintezei nu poate fi determinată după cantitatea de apă utilizată ca materie primă în acest proces, deoarece gradul de hidratare a organelor de asimilație suferă mari variații în timp și din cauză că apa din aceste organe participă și la desfășurarea altor procese fiziologice.

3.4.1.1. Procedee bazate pe determinarea cantității de dioxid de carbon absorbit

Aceste procedee se aplică la determinarea intensității fotosintezei plantelor terestre și constau în stabilirea cantității de CO_2 absorbit de frunzele lor, în prezența luminii, într-un recipient de sticlă (cu rol de cameră de asimilație) izolat de atmosfera înconjurătoare.

Cel mai simplu procedeu dintre cele din această categorie este procedeul imaginat de L. A. Ivanov. Pentru determinare se iau două baloane Erlenmeyer, cu o capacitate de un litru, care se aerisesc prin pompare de aer în ele, cu ajutorul unei pere de cauciuc sau al unei pompe vibratoare utilizate pentru aerarea apei din acvarii. După pregătirea baloanelor, se detașează de pe plantă frunza de cercetat, se înfășoară extremitatea liberă a pețiolului ei în puțină vată, se umezește vata cu apă pentru a împiedica vestejirea frunzei în timpul determinării și se fixează frunza prin legarea cu ață a porțiunii pețiolului înfășurată în vată de bagheta de sticlă care străbate dopul unuia dintre baloane, astfel ca la astuparea balonului cu dopul, să rămînă suspendată în interiorul lui. Se acoperă balonul cu dopul, se așază la lumină astfel ca fața superioară a limbului frunzei să fie îndreptată spre direcția din care vine lumina, se notează ora începerii determinării și se citește pe termometrul care străbate dopul balonului, temperatura la începutul determinării. Alături de acest balon cu planta se așază cel de al doilea balon (martor), închis și el cu un dop străbătut de un termometru (fig. 3.11 a și b). Pentru determinările efectuate în scop

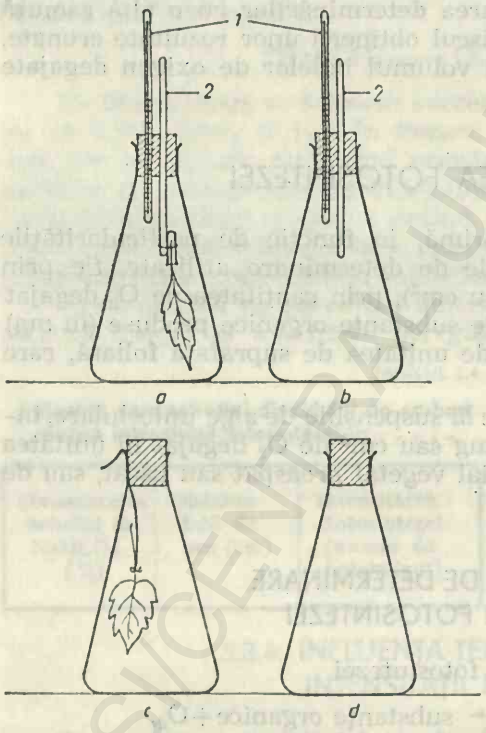


Fig. 3.11. Determinarea intensității fotosintezei după cantitatea de dioxid de carbon absorbit:
a – balonul cu frunza; b – balonul martor; c – balonul cu frunza (în varianta simplificată); d – balonul martor (în varianta simplificată); 1 – termometre; 2 – baghete de sticlă.

didactic se pot folosi baloane Erlenmeyer astupate cu dopuri simple (fără termometre și baghetă), procedînd în modul următor: într-unul din baloane se suspendă frunza de cercetat, astfel ca porțiunea liberă a ației cu care s-a legat vata umezită de capătul liber al peţiolului ei să iasă din balon, după ce acesta a fost astupat cu dopul, iar celălalt balon se așază alături de cel cu frunza, la lumină (fig. 3.11 c și d).

După un interval de timp de 15—30 de minute, în funcție de intensitatea fotosintezei, se citește temperatura din interiorul baloanelor și în cazul cînd ea a crescut se răcește aerul din ele pînă la temperatura inițială, ținînd baloanele sub un jet de apă; dacă temperatura aerului din baloane a scăzut, se încălzesc baloanele, ținîndu-le între palme, pînă cînd temperatura aerului din ele revine la valoarea inițială. În acest mod se evită ieșirea sau pătrunderea de aer în baloane, în timpul introducerii în ele a reactivilor necesari în determinări. După readucerea temperaturii aerului din baloane la valoarea inițială (măsură care nu se aplică în cazul determinărilor simplificate pentru uz didactic), se scoate frunza din balon și se introduce în el un volum de 20 ml soluție de $Ba(OH)_2$ n/50, după care se închide imediat balonul. Se procedează în același mod cu celălalt balon (martor) și se agită apoi ușor hidroxidul din cele două baloane, timp de 15 minute, pentru ca să capteze toată cantitatea de CO_2 rămas în aerul din interiorul baloanelor, conform reacției:

$$Ba(OH)_2 + CO_2 = BaCO_2 + H_2O$$

Datorită faptului că în timpul fotosintezei frunza a absorbit CO_2, în aerul din balonul în care a stat frunza rămîne o cantitate mai mică de CO_2 și, în consecință, în acest balon rămîne o cantitate mai mare de $Ba(OH)_2$ decît în balonul martor.

După agitarea hidroxidului din baloane, timp de 15 minute, se titrează hidroxidul rămas necarbonatat în ele, cu o soluție de HCl n/50. Titrarea se face direct în baloane. În acest scop se adaugă în ele cîteva picături de soluție de fenolftaleină 1% (reactivul nr. 21), care dă cu soluția de hidroxid o colorație roșie, după care se începe titrarea, adăugînd încet soluția de HCl din biuretă și agitînd conținutul baloanelor, pînă la apariția culorii roz-pal. Se notează volumul de soluție de HCl folosit la titrări (în ml), după care se determină suprafața frunzei prin procedeul descris în paragraful 1.5.1.2.1.1.

Intensitatea fotosintezei se calculează după formula:

$$\frac{(a-b) \cdot F \cdot 0{,}221 \cdot 60 \cdot 1}{S \cdot t},$$

în care:

a=volumul soluției de HCl folosit la titrarea hidroxidului de bariu rămas necarbonatat în balonul în care a stat frunza (în ml);

b=volumul soluției de HCl folosit la titrarea hidroxidului de bariu rămas necarbonatat în balonul martor (în ml);

F=factorul soluției de HCl n/50[1];

[1] Factorul se află punînd în trei baloane Erlenmeyer cu capacitatea de 100 ml, cîte 25 ml de soluție de $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$ n/50 (pregătită prin dizolvarea a 3,8145 g de tetraborat de Na/litru) și cîte trei picături de indicator, pregătit înainte de de-

0,224=cantitatea de CO_2 (în cm^3) care corespunde la 1 mililitru de soluție de HCl exact n/50[1];

60=coeficient pentru raportarea intensității fotosintezei la unitatea de timp (o oră);

1=coeficient pentru raportarea intensității fotosintezei la unitatea de suprafață foliară (1 dm^2);

S=suprafața frunzei (în dm^2);

t=durata determinării (în minute).

Toate datele necesare efectuării calculelor se înscriu într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 3.6.

TABELUL 3.6

Intensitatea fotosintezei la . . . . .

Proba	Durata determinării (minute)	Masa mulajului frunzei (mg)	Masa hîrtiei etalon (mg)	Suprafața frunzei (dm^2)	ml HCl n/50 folosiți la titrare	Intensitatea fotosintezei (cm^3 CO_2/dm^2/h)
cu planta						
martor		—	—	—		—

Rezultatul obținut prin calcul reprezintă intensitatea fotosintezei, exprimată în cm^3 $CO_2/dm^2/h$.

---

terminare prin amestecarea unei soluții de roșu de metil 0,2% (obținută prin dizolvarea substanței în alcool etilic de 96%) cu o soluție de albastru de metilen 0,125% (pregătită tot în alcool etilic de 96%), în proporție de 5 : 2. Se titrează conținutul baloanelor Erlenmeyer cu soluția de HCl n/50, pînă cînd culoarea soluției de tetraborat virează de la verde la violet.

Factorul soluției de HCl se calculează după formula:

$$\frac{\text{ml } Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O \text{ exact n/50}}{\text{ml HCl n/50 folosiți la titrare}}$$

luînd în considerare media celor trei titrări.

[1] Această valoare s-a stabilit pe baza reacției care are loc între CO_2 și $Ba(OH)_2$:

$$CO_2 + Ba(OH)_2 = BaCO_3 + H_2O$$

Din această reacție rezultă că la o moleculă-gram de $Ba(OH)_2$ corespunde o moleculă-gram de CO_2, care ocupă un volum de 22 412 cm^3. Între HCl și $Ba(OH)_2$ are loc reacția:

$$Ba(OH)_2 + 2HCl = BaCl_2 + 2H_2O$$

În acest caz, la o moleculă-gram de HCl corespunde 1/2 moleculă-gram de $Ba(OH)_2$ și, respectiv, 1/2 moleculă-gram de CO_2, care ocupă un volum de $\frac{22412}{2} =$ $=11\,206$ cm^3 CO_2.

Prin urmare, la o moleculă-gram, care în cazul HCl este egală cu echivalentul-gram al acestuia, corespund 11 206 cm^3 CO_2.

3.4.1.2. Procedee bazate pe determinarea cantității de oxigen degajat

Dintre aceste procedee fac parte procedeul de determinare a cantității de O_2 solvit în apă, rezultat în urma fotosintezei plantelor submerse, procedeul volumetric de determinare a cantității de O_2 degajat sub formă gazoasă de plantele submerse și procedeele manometrice, care pot fi utilizate pentru determinarea intensității fotosintezei atît la plantele submerse cît și la cele terestre.

3.4.1.2.1. Determinarea intensității fotosintezei la plantele superioare submerse, după cantitatea de oxigen solvit în apă

Procedeul constă în determinarea cantității de oxigen degajat la lumină în timpul fotosintezei, de plantele superioare submerse, introduse în recipiente de sticlă cu volum cunoscut, prin diferența dintre valoarea finală și concentrația inițială de oxigen solvit, existent într-un volum de apă egal cu cel în care au stat plantele. Dozarea cantității de oxigen solvit în apă se face după procedeul elaborat de L. W. Winkler.

Pentru determinare se iau două recipiente de sticlă, cu rol de cameră de asimilație, reprezentate prin sticle cu dop rodat, cu un volum de circa 500 ml, stabilit cu precizie.

Un procedeu simplu de determinare a volumului sticlelor constă în aflarea masei lor cînd sînt goale și acoperite cu dopurile respective, după care se umplu cu apă distilată, se închid cu dopurile corespunzătoare astfel ca în interiorul lor să nu rămînă bule de aer, se șterg pentru a înlătura urmele de apă de pe suprafața lor și se cîntăresc din nou. Considerînd că un gram de apă distilată are un volum de un mililitru, volumul sticlelor va fi egal cu diferența dintre masa sticlelor umplute cu apă și masa lor fără apă[1]. După etalonare, sticlele se numerotează lipind atît pe gîtul cît și pe dopurile lor cîte o bucată de leucoplast, pe care se scriu numerele corespunzătoare. De asemenea, se pregătesc, în același mod, două sticle de dozare, cu un volum de circa 100 ml, determinat cu precizie, care vor servi la dozarea cantității de oxigen solvit în apă.

În vederea înlăturării, pe cît posibil, a variațiilor individuale și obținerii unor valori medii ale intensității fotosintezei, se pregătesc din plantele de cercetat (*Elodea, Ceratophyllum, Myriophyllum* etc.) 3—5 ramuri, lungi de 10—12 cm, alese astfel ca să aibă un aspect cît mai uniform.

Deoarece, însă, la titrare se folosește o soluție de HCl n/50, cantitatea de CO_2 corespunzătoare la 1 000 ml de HCl n/50 va fi de:

$$\frac{11206}{50} = 224 \text{ cm}^3 \text{ } CO_2,$$

de unde rezultă că la 1 ml soluție de HCl n/50 va corespunde o cantitate de CO_2 egală cu

$$\frac{224}{1000} = 0{,}224 \text{ cm}^3.$$

[1] Pentru determinări mai precise, se recomandă să se ia temperatura apei și să se facă corecțiile de temperatură (v. tabelul 3 din anexă).

Aceste ramuri se pregătesc cu 1—2 zile înainte de efectuarea determinării, pentru ca să se evite fenomenele de şoc provocate de lezarea lor prin detaşarea de pe plante prin tăiere şi să se favorizeze cicatrizarea leziunilor provocate, astfel ca în timpul determinării ele să nu degaje oxigen sub formă de bule, deoarece acesta nu poate fi dozat după procedeul Winkler. Operaţiile de pregătire a ramurilor se execută cît mai repede posibil, pentru a le feri de pierderi de apă în timpul cît stau în aer, după care se păstrează într-un vas cu apă pînă la începerea determinării.

În timpul determinării ramurile se ţin în apă, care a fost fiartă şi lăsată să stea într-un vas cu gîtul larg, la temperatura laboratorului, pentru a ajunge la echilibru cu conţinutul de oxigen din atmosferă, în condiţiile temperaturii şi presiunii atmosferice existente în laborator.

Pentru determinare, se leagă ramurile alese cu o aţă, la partea lor bazală şi se introduc repede într-unul din recipientele de sticlă, astfel ca să se găsească în poziţie normală şi ca extremitatea liberă a aţei să iasă prin gîtul recipientului, după care se umple imediat recipientul cu apa pregătită pentru determinare. Pentru a evita modificarea conţinutului de oxigen solvit al apei în timpul umplerii recipientului, umplerea se face prin sifonare. În acest scop se foloseşte un tub de sticlă îndoit în V şi prelungit la una din extremităţi cu un tub de cauciuc prevăzut cu o clemă. Se introduce tubul de sticlă, cu capătul lipsit de tubul de cauciuc, în vasul în care se află apa pregătită pentru determinări şi după ce se absoarbe apa prin capătul lui opus, se închide clema de pe tubul de cauciuc, care în timpul absorbţiei de apă a fost ţinută în poziţie deschisă şi se introduce capătul liber al tubului de cauciuc pînă la fundul sticlei cu planta, pentru ca în timpul umplerii ei cu apă să nu se producă nici o barbotare. Se apasă pe clemă şi se umple sticla, iar după umplerea ei se lasă ca o parte din apa din interior să se reverse, pentru a îndepărta tot stratul de apă care a venit în contact cu aerul în timpul umplerii (fig. 3.12 a). Se scoate apoi tubul de cauciuc din sticlă, se închide clema pentru a opri scurgerea apei prin tub şi se închide sticla imediat, avînd grijă să nu rămînă bule de aer în interiorul ei. Se aşază sticla la lumină şi se notează ora începerii determinării. După un interval de timp de 5 minute, se umple în acelaşi mod cea de a doua sticlă (martor), lipsită de plante, care se aşază alături de prima şi va servi la determinarea cantităţii iniţiale de oxigen solvit în apa utilizată la determinări.

Durata determinării depinde de intensitatea fotosintezei şi este necesar ca, pe parcursul ei, să se urmărească periodic ca în interiorul sticlei cu ramurile plantei de cercetat să nu apară bule de aer, deoarece aceasta indică saturarea apei cu oxigenul degajat în fotosinteză şi duce la obţinerea unor rezultate eronate întrucît oxigenul degajat sub formă de bule nu poate fi dozat prin procedeul Winkler.

După un interval de timp convenabil, care se notează, se trece la dozarea oxigenului solvit în apa din sticle. În acest scop, se deschide sticla cu planta, se introduce în interiorul ei tubul de sifonare şi se umple o sticlă de dozare, după procedeul menţionat pentru umplerea sticlei cu planta şi a celei martor (fig. 3.12 b). După umplere, se închide sticla de dozare cu dopul corespunzător, pentru a lăsa în interiorul ei numai volumul de apă pe care-l poate cuprinde. Se scoate apoi dopul sticlei de dozare şi se trece la fixarea oxigenului solvit în apa în care a stat planta, introducînd în sticlă 1 ml soluţie de KI în NaOH (reactivul nr. 39) şi 1 ml soluţie de $MnCl_2$ (reactivul nr. 40). În timpul adăugării acestor reactivi, fie-

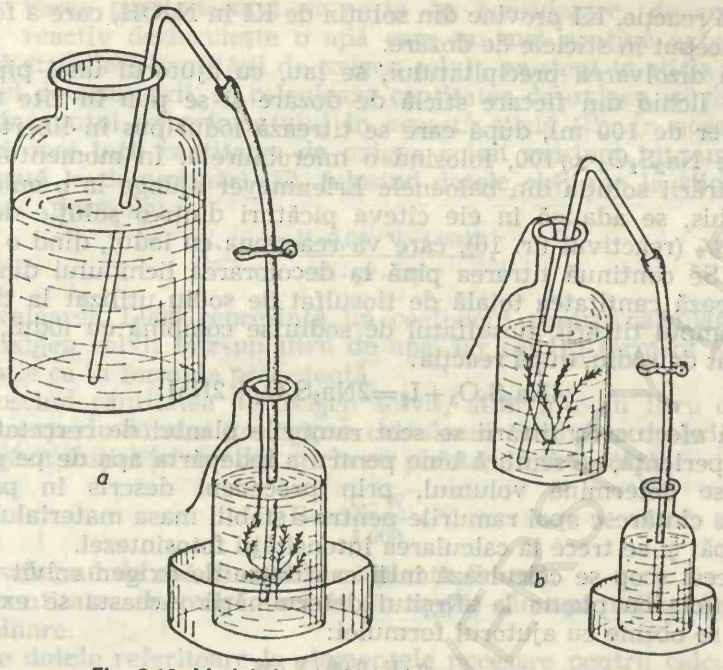


Fig. 3.12. Modul de umplere a sticlelor prin sifonare:
a – umplerea sticlei cu planta și a celei martor; b – umplerea sticlelor de dozare a oxigenului solvit în apă.

care cu o pipetă separată, vîrful pipetei se fixează pe partea interioară a gîtului sticlei, lăsînd să se scurgă ușor reactivii din pipetă. În urma adăugării acestor reactivi, se închide repede sticla de dozare, astfel ca să nu rămînă bule de aer în interiorul ei și după aceea se agită conținutul ei, prin mișcări lente de răsturnare, ținînd dopul sticlei pentru a evita eventuala deschidere a acesteia. În continuare se procedează în același mod cu sticla martor.

În urma adăugării reactivilor, în sticlele de dozare apare un precipitant de hidroxid manganos, de culoare albă, care provine din reacția:

$$MnCl_2 + 2NaOH = Mn(OH)_2 + 2NaCl$$

Hidroxidul manganos format, se combină cu oxigenul solvit în apă și se transformă în hidroxid manganic, care este un precipitat de culoare brună, prin reacție:

$$2Mn(OH)_2 + {}^1/_2O_2 = H_2O = 2Mn(OH)_3$$

Se lasă sticlele de dozare în repaus și după ce se depune precipitatul din interiorul lor, se adaugă în fiecare din ele cîte 3 ml soluție de HCl concentrat (d=1,19), procedînd în același mod ca la adăugarea reactivilor precedenți. Introducereae soluției de HCl în sticlele de dozare se face cu deosebită grijă, pentru ca precipitatul din ele să nu se ridice pînă în apropierea gîtului lor. După adăugarea soluției de HCl se închid imediat sticlele, astfel ca în interiorul lor să nu rămînă bule de aer și se agită conținutul lor, prin mișcări rapide de răsturnare (ținînd dopul sticlelor, pentru a evita deschiderea acestora), pînă la dizolvarea precipitatului. În urma adăugării soluției de HCl se produce reacția:

$$4Mn(OH)_3 + 12HCl + 4KI = 4MnCl_2 + 4KCl + 12H_2O + I_2$$

În această reacție, KI provine din soluția de KI în NaOH, care a fost adăugată la început în sticlele de dozare.

După dizolvarea precipitatului, se iau, cu ajutorul unei pipete, cîte 25 ml de lichid din fiecare sticlă de dozare și se pun în cîte un balon Erlenmeyer de 100 ml, după care se titrează iodul pus în libertate, cu o soluție de $Na_2S_2O_3$ n/100, folosind o microbiuretă. În momentul cînd în timpul titrării soluția din baloanele Erlenmeyer ajunge la o culoare galben deschis, se adaugă în ele cîteva picături dintr-o soluție de clei de amidon 1% (reactivul nr. 16), care va reacționa cu iodul, dînd o coloratie albastră. Se continuă titrarea pînă la decolorarea lichidului din baloane și se notează cantitatea totală de tiosulfat de sodiu utilizat la titrare (în ml). În timpul titrării, tiosulfatul de sodiu se combină cu iodul, formînd tetrationat de sodiu, după reacția:

$$4Na_2S_2O_3 + I_2 = 2Na_3S_4O_6 + 2NaI$$

După efectuarea titrării se scot ramurile plantei de cercetat din sticla de experiență, se scutură bine pentru a îndepărta apa de pe suprafața lor și li se determină volumul, prin procedeul descris în paragraful 7.2.3.6. Se cîntăresc apoi ramurile pentru a stabili masa materialului vegetal proaspăt și se trece la calcularea intensității fotosintezei.

În acest scop se calculează întîi cantitatea de oxigen solvit (A) existent în sticla cu planta la sfîrșitul determinării. Aceasta se exprimă în mg O_2 și se obține cu ajutorul formulei:

$$A = \frac{n \cdot F \cdot 0{,}08 \cdot V \cdot W}{25 \cdot (V-2)},$$

în care:

n=volumul de tiosulfat de sodiu folosit la titrare (în ml);

F=factorul soluției de tiosulfat de sodiu[1];

0,08=cantitatea de oxigen (în mg) care corespunde la un mililitru de tiosulfat de sodiu exact n/100;

V=volumul sticlei de dozare (în ml);

W=volumul de apă din sticla în care au stat ramurile plantei de cercetat (în ml);

25=volumul probei luate la titrare (în ml);

2=volumul de apă dezlocuit din sticla de dozare (în ml) în urma adăugării reactivilor utilizați la fixarea oxigenului solvit (1 ml de soluție de KI în NaOH și 1 ml de soluție de $MnCl_2$); volumul soluției de HCl adăugat în sticlele de dozare pentru dizol-

---

[1] Factorul se determină cu o soluție de bicromat de potasiu n/100 (care conține 0,4903 g $K_2Cr_2O_7$/litru). Se pun în trei baloane Erlenmeyer, cu capacitatea de 500 ml, cîte 20 ml din soluția de $K_2Cr_2O_7$ n/100, se adaugă în ele cîte 1,2 g KI cristalizat, 80 ml de apă distilată și 10 ml de soluție de H_2SO_4 10% (reactivul nr. 9). Se agită conținutul baloanelor, se lasă în repaus timp de 15 minute ca să se pună iodul în libertate, în urma reacției dintre $K_2Cr_2O_7$ și KI, după care se titrează cu soluția de tiosulfat. În timpul titrării, în momentul cînd culoarea lichidului din baloane ajunge la galben deschis, se adaugă în el cîteva picături dintr-o soluție de clei de amidon 1% (reactivul nr. 16), care va da cu iodul o coloratie albastră și se continuă titrarea pînă ce lichidul din baloane devine incolor.

Factorul soluției de $Na_2S_2O_3$ n/100 se calculează după formula:

$$\frac{\text{ml soluție de } K_2Cr_2O_7 \text{ exact n/100}}{\text{ml soluție de } Na_2S_2O_3 \text{ folosiți la titrare}},$$ luînd în considerație media trei titrări.

varea precipitatului nu se ia în considerare, deoarece acest reactiv dezlocuiește o apă care nu mai conține oxigen solvit.

După stabilirea cantității de oxigen solvit, existent în sticla cu planta la sfîrșitul determinării, se calculează cantitatea de oxigen solvit care s-a aflat la începutul experimentului în această sticlă (B). În acest scop se calculează mai întîi cantitatea de oxigen solvit existent într-un litru de apă utilizată la determinări (C), folosind datele obținute la sticla martor și aplicînd formula:

$$C = \frac{n \cdot F \cdot 0{,}08 \cdot V \cdot 1\,000]}{25 \cdot (V-2)},$$

în care valoarea 1 000 reprezintă un coeficient pentru calcularea cantității de oxigen solvit într-un litru de apă, iar ceilalți termeni au aceeași semnificație ca în formula precedentă.

Cunoscînd cantitatea de oxigen solvit, aflat într-un litru de apă la începutul experimentului (în mg), se calculează cantitatea de oxigen solvit care s-a găsit inițial în apa din sticla cu planta, după formula:

$$B = \frac{C \cdot W}{1\,000},$$

în care:

W=volumul de apă din sticla cu planta (în ml);

C=cantitatea de oxigen solvit (în mg/l) din apa utilizată la determinare.

Toate datele referitoare la elementele necesare pentru calcularea rezultatelor, se înscriu într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul nr. 3.7.

Intensitatea fotosintezei (exprimată în mg O_2/g substanță proaspătă/h) se calculează după formula:

$$\frac{(A-B) \cdot 60}{m \cdot t},$$

în care:

A=cantitatea de O_2 solvit existent în sticla cu planta, la sfîrșitul determinării (în mg);

B=cantitatea de O_2 solvit, aflată în apa din sticla cu planta la începutul determinării (în mg);

m=masa plantelor (în grame);

t=durata determinării (în minute).

Dacă intensitatea fotosintezei se raportează la 1 gram de substanță uscată, se usucă ramurile plantei de cercetat, pînă la masă constantă, după procedeul descris în paragraful 1.3.3.6.

TABELUL 3.7

Intensitatea fotosintezei la . . . . .

Proba	Durata determinării (minute)	Nr. sticlei	Volumul sticlei (ml)	Volumul plantei (ml)	Masa proaspătă a plantei (g)	Nr. sticlei de dozare	Volumul sticlei de dozare (ml)	ml $Na_2S_2O_3$ folosit la titrare	mg O_2 final în sticle A	mg O_2/l în apa utilizată C	mg O_2 inițial în sticle B	Intensitatea fotosintezei (mg O_2/g/h)
cu planta										—		
martor				—			—		—		—	—

3.4.1.2.2. Procedeul volumetric (Audus)

Dintre procedeele volumetrice, care constau în determinarea intensității fotosintezei după volumul de oxigen degajat de ramurile secționate ale plantelor acvatice submerse, cel mai simplu este cel imaginat de L. J. Audus (1940).

Pentru determinare se recurge la un dispozitiv, care poate fi confecționat din sticlă (fig. 3.13), alcătuit dintr-un tub colector (1) cu lungimea de 12—14 cm și diametrul de 1,5—2 cm, care prezintă un șir de orificii laterale, ce se prelungește cu un tub capilar (2) aflat în poziție orizontală (lung de circa 12—14 cm), care se continuă cu un alt tub capilar, aflat în poziție verticală (3). Tubul capilar vertical prezintă în partea superioară o porțiune dilatată, în formă de sferă (4), iar la extremitățile lui se fixează cîte un tub de cauciuc, prevăzut cu cîte o clemă Hoffmann (5 și 6). Tubul de cauciuc de la extremitatea inferioară a capilarului se astupă cu o baghetă de sticlă (7). Pentru lucru, dispozitivul se fixează în clema unui stativ (8), astfel ca tubul colector să fie scufundat în întregime în apa aflată într-un pahar Berzelius (9).

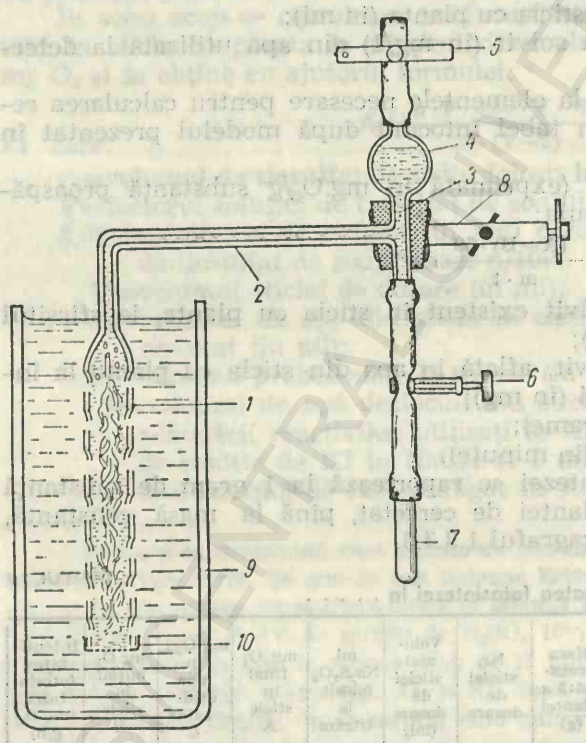


Fig. 3.13. Dispozitivul lui Audus:
1 — tub colector; 2 — tub capilar orizontal; 3 — tub capilar vertical; 4 — porțiunea dilatată a tubului capilar vertical; 5 — clemă Hoffmann, fixată pe tub de cauciuc; 6 — clemă Hoffmann fixată pe tub de cauciuc; 7 — baghetă de sticlă; 8 — clema de fixare a dispozitivului la stativ; 9 — pahar Berzelius umplut cu apă; 10 — tifon fixat cu ajutorul unui inel de cauciuc.

Înainte de determinare, se secționează oblic, cu ajutorul unei lame de ras, 1—3 ramuri ale unei plante submerse (de preferință *Elodea canadensis*), care se introduc, cu suprafața de secțiune în sus, în tubul colector, după care se fixează la extremitatea inferioară a acestuia o bucată de tifon (10), cu ajutorul unui inel de cauciuc, pentru a menține ramurile în interiorul lui, în timpul manevrării dispozitivului. Se fixează dispozitivul la stativ, astfel ca tubul colector să fie scufundat în întregime în apa din paharul Berzelius, se strînge complet clema 6, se deschide clema 5 și se suge apă prin tubul de cauciuc pe care este fixată clema 5, pînă cînd porțiunea dilatată a tubului vertical se umple aproape complet cu apă din pahar, după care se închide cle-

ma 5, se așază dispozitivul la lumină (naturală sau artificială, furnizată de un bec electric) și se notează ora începerii determinării.

În timpul desfășurării fotosintezei, bulele de oxigen, degajate de ramură, se vor acumula în porțiunea superioară a tubului colector. După un interval de timp, care depinde de intensitatea fotosintezei, oxigenul degajat se trece în capilarul orizontal al dispozitivului (2), prin deschiderea treptată a clemei 6 și se măsoară, cu o riglă, lungimea coloanei de gaz (în mm). Volumul de oxigen degajat se calculează cu ajutorul formulei utilizate pentru aflarea volumului unui cilindru:

$$V=\pi r^2 \cdot I,$$

în care:

V=volumul de oxigen degajat (în mm^3);
r=raza lumenului tubului capilar (în mm);
I=lungimea coloanei de gaz din tubul capilar (în mm).

După determinare, se scoate planta din tubul colector, se scutură bine pentru a îndepărta apa de pe suprafața ei, i se determină masa proaspătă și se calculează intensitatea fotosintezei, după formula:

$$\frac{V \cdot 60}{t \cdot m},$$

în care:

V=volumul de oxigen degajat de plantă în timpul determinării (în mm^3);
60=coeficient pentru raportarea intensității fotosintezei la unitatea de timp (o oră);
t=durata determinării (în minute);
m=masa materialului vegetal proaspăt (în grame).

Dacă intensitatea fotosintezei se raportează la 1 gram de substanță uscată, se usucă planta într-un termostat, pînă la masă constantă, după procedeul descris în paragraful 1.3.3.6.

Acest procedeu se poate utiliza, cu ușurință, pentru studiul influenței diferitelor substanțe dizolvate în apă asupra fotosintezei și pentru evidențierea influenței factorilor externi asupra acestui proces fiziologic, recurgînd la metodologia descrisă în paragraful 3.3.[1]

3.4.1.2.3. Procedeul manometric (Warburg)

Procedeul manometric, elaborat de O. Warburg, poate fi utilizat pentru determinarea intensității fotosintezei atît la organismele vegetale acvatice, cît și la cele terestre.

Pentru determinare, se pregătește instalația după recomandările date în paragraful 10.5.1, după care, în funcție de particularitățile materialului vegetal utilizat în cercetări, se procedează în modul următor:

— În cazul cercetărilor efectuate pe plante acvatice superioare submerse, se ia un fragment mic de ramură a plantei de cercetat și, după

[1] În cazul în care se va urmări influența diferitelor radiații ale spectrului solar asupra intensității fotosintezei, folosind filtre reprezentate prin soluții colorate, tubul colector al dispozitivului Audus trebuie introdus într-o eprubetă cu apă și împreună cu aceasta în paharul Berzelius, în care se vor turna soluțiile colorate, astfel ca nivelul lor să depășească lungimea tubului colector.

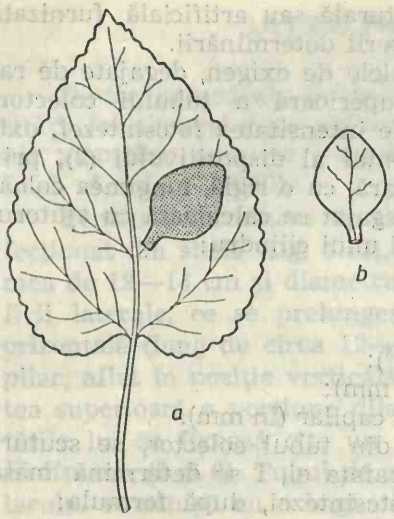


Fig. 3.14. Decuparea din limbul frunzei a unei porțiuni cu suprafața cunoscută:

a — frunza, cu șablonul așezat pe suprafața limbului; b — porțiunea decupată din limb, prevăzută cu un pețiol artificial reprezentat printr-o nervură.

ce i se determină volumul prin procedeul descris în paragraful 7.2.3.6, se introduce în vasul de reacție al unei garnituri vas de reacție-manometru, în spațiul din jurul păhărelului central. Se adaugă, prin pipetare, peste materialul vegetal, un volum de apă, care se măsoară cu precizie, astfel ca ramura să fie complet acoperită și apoi se introduce în vas, tot în spațiul din jurul păhărelului central, un volum de 0,5 ml soluție tampon Warburg nr. 6 (reactivul nr. 42).

Se ia apoi un alt vas de reacție și se introduce în el apă distilată, într-un volum egal cu volumul plantei, apei și soluției tampon din vasul cu material vegetal. Acest vas de reacție, atașat la manometrul corespunzător, va juca rol de termobarometru, înregistrînd variațiile de temperatură și presiune din timpul determinării.

— În cazul cînd determinările se efectuează pe suspensii de alge unicelulare, se introduc într-un vas de reacție 5 ml de suspensie, bine agitată în prealabil și se adaugă peste ea 0,5 ml de soluție tampon Warburg nr. 6.

Într-un alt vas de reacție, care va servi ca termobarometru, se introduce un volum de apă distilată, egal cu volumul suspensiei de alge și al soluției tampon introduse în vasul de reacție precedent.

— Dacă determinările se fac la frunzele plantelor terestre, se detașează o frunză de pe planta de cercetat, se așază pe masă, se pune peste limbul ei un șablon (confecționat dintr-o bucată de carton) cu suprafața cunoscută (în dm^2), prevăzut cu o porțiune îngustată, care se orientează în lungul unei nervuri (fig. 3.14) și se decupează cu o lamă de ras porțiunea de limb de sub el[1]. Se ia apoi un vas de reacție, se introduc în el, în jurul păhărelului central, 3 ml de soluție tampon Warburg nr. 6, iar în păhărelul central 0,3 ml apă, după care se rulează ușor porțiunea decupată din limbul frunzei, se prinde cu o pensă și se introduce cu porțiunea îngustată în apa din păhărelul central, avînd grijă ca în timpul acestei operații să nu se atingă gîtul vasului de reacție. Această precauție se impune pentru a nu se astupa o parte din ostiolele stomatelor cu unsoarea de robinet de pe gîtul vasului de reacție. În momentul cînd se eliberează din pensă porțiunea decupată din limb, aceasta se va derula, luînd o poziție normală, iar extremitatea lui subțire, din păhărelul central, care cuprinde o nervură, va juca rolul de pețiol artificial și va aproviziona materialul vegetal cu apa necesară, împiedicînd deshidratarea lui și modificarea, pe această cale, a intensității fotosintezei, în timpul determinării.

Într-un alt vas de reacție, care va servi ca termobarometru, se intro-

[1] Suprafața șablonului se află prin procedeul mulajelor, descris în paragraful 1.5.1.2.1.1.

duce un volum de apă distilată egal cu volumul apei, soluției tampon și materialului vegetal introduse în vasul precedent. În acest scop este necesar să se mai decupeze din frunza luată pentru determinare o porțiune identică cu prima, folosind șablonul și să i se determine volumul, după procedeul descris în paragraful 7.2.3.6.[1]

Indiferent de particularitățile materialului vegetal utilizat, pentru determinarea intensității fotosintezei se efectuează următoarele operațiuni:

a. Se atașează vasele de reacție la manometrele corespunzătoare, avînd grijă ca robinetele acestora să fie deschise, se consolidează fixarea vaselor pe conul de racordare al manometrelor, punînd pe ghearele de sticlă cu care sînt prevăzute vasele și conurile de racordare, arcurile metalice existente în dotarea instalației, sau în lipsa acestora inele de cauciuc și se fixează garniturile vas de reacție-manometru la cadrul metalic de agitare mecanică al instalației, astfel ca vasele de reacție să fie scufundate în apa din baia termostat.

b. Se aduce nivelul lichidului Brodie din brațele cu robinet ale manometrelor la diviziunea 150, se fixează pe termometrul releului de încălzire (termometru Wertex) temperatura de lucru (25°C), se conectează instalația la rețeaua de curent electric, se cuplează sistemul de încălzire a băii termostat și se pornește agitarea mecanică, reglînd din butonul corespunzător viteza acesteia la o valoare medie. Se lasă instalația în funcțiune timp de 15 minute pentru echilibrarea termică, în timpul căreia aerul, materialul vegetal, apa și reactivul din vasele de reacție vor lua temperatura stabilită pentru lucru. În timpul echilibrării termice se controlează temperatura băii termostat cu ajutorul termometrului de control și, la nevoie, se corectează prin manevrarea corespunzătoare a dispozitivului de reglaj cu care este prevăzut termometrul releului de încălzire.

c. După echilibrarea termică se oprește agitarea mecanică, se controlează dacă nivelul lichidului Brodie a rămas la diviziunea 150 pe brațul cu robinet al manometrelor (la nevoie se corectează) și se închid robinetele manometrelor. În acest moment se pune în funcțiune sistemul de iluminare a băii termostat[2], se pornește agitarea mecanică și se notează ora începerii determinării.

În timpul determinării, în garnitura de experiență (cu material vegetal), ca urmare a faptului că materialul vegetal absoarbe dioxid de carbon, a cărui concentrație este menținută în sistemul închis la o valoare constantă de către soluția tampon, nivelul lichidului manometric din brațul cu robinet al manometrului se deplasează în jos, iar în brațul deschis în sus, ca urmare a acumulării în sistemul închis a oxigenului degajat în fotosinteză (fig. 3.15).

În garnitura vas de reacție-manometru fără material vegetal (termobarometru) se înregistrează rezultanta variațiilor de temperatură și presiune din timpul determinării. În cazul cînd în timpul determinării tem-

[1] În cazul determinărilor efectuate cu scop didactic, volumul materialului vegetal se poate neglija și în vasul de reacție al garniturii termobarometru se introduc doar 3,3 ml de apă distilată, adică un volum echivalent cu cel al soluției tampon și al apei introduse în vasul de reacție cu material vegetal.

[2] Pentru determinarea intensității fotosintezei, instalația Warburg trebuie echipată suplimentar cu un sistem de iluminare, confecționat dintr-o baterie de tuburi fluorescente sau de becuri, care se așază sub baia termostat.

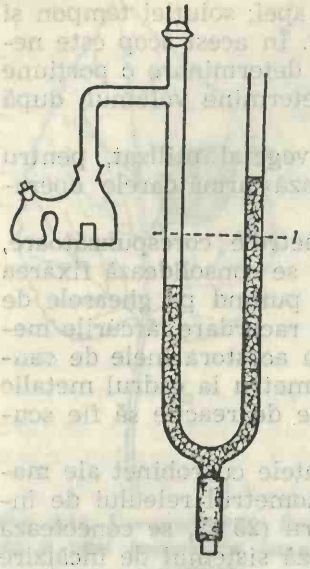


Fig. 3.15. Reprezentarea schematică a deplasării lichidului manometric în timpul determinării intensității fotosintezei, în manometrul atașat la vasul de reacție cu material vegetal:
1 — nivelul inițial al lichidului Brodie în brațele manometrului.

peratura și presiunea nu se modifică, nivelul lichidului manometric din garnitura termobarometru rămîne la diviziunea 150 în ambele brațe ale manometrului.

d. După un interval de timp, care depinde de intensitatea fotosintezei, timp care se notează, se oprește agitarea mecanică și se aduce nivelul lichidului Brodie în ramura cu robinet a manometrelor la diviziunea 150 (pentru a realiza cerința impusă de principiul procedeului și anume determinarea variației de presiune în sistemul închis în condiții de volum constant) și se citește variația de presiune pe brațul deschis al manometrelor, notînd citirile într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 3.8).

În acest tabel, datele referitoare la variația de presiune și la devierea reală se notează în modul următor:

— În cazul garniturii cu material vegetal variația de presiune va fi egală cu numărul de diviziuni la care se găsește nivelul lichidului Brodie în brațul deschis al manometrului, din care se scad 150 de diviziuni; valoarea obținută se notează cu semnul + așezat înaintea cifrei obținute după scădere.

— Variațiile de presiune și de temperatură, în timpul determinării, indicate de termobarometru se calculează astfel: în cazul cînd după restabilirea volumului inițial nivelul lichidului Brodie se va găsi peste diviziunea 150 din brațul deschis al manometrului, din citire se scad 150 de diviziuni și în fața cifrei rezultate se pune semnul +; în cazul cînd nivelul lichidului Brodie se va găsi în brațul deschis al manometrului sub diviziunea 150, se scade din 150 numărul de diviziuni la care se găsește nivelul lichidului manometric și în fața diferenței rezultate se pune semnul —.

TABELUL 3.8

Determinarea intensității fotosintezei la . . . . . prin procedeul manometric Warburg

Nr. garniturii vas de reacție-manometru	Destinația garniturii vas de reacție-manometru	Durata determinării (minute)	Marca inițială (diviziuni)	Variația de presiune (diviziuni)	Devierea reală (diviziuni)	Constanta garniturii (K)	$mm^3 O_2$ (K.h)	Intensitatea fotosintezei
	cu material vegetal		150					
	termobarometru		150		—	—	—	—

— Devierea reală (h) rezultă din corectarea variației de presiune citită la garnitura vas de reacție-manometru cu material vegetal cu indicația termobarometrului: dacă devierea lichidului manometric în manometrul termobarometrului s-a făcut în același sens ca și în garnitura cu material vegetal, din indicația acestuia se scade indicația citită la termobarometru (în diviziuni); dacă deplasarea lichidului Brodie în ramura deschisă a manometrului de la termobarometru s-a făcut în sens contrar celui înregistrat în garnitura cu material vegetal, la indicația acestuia se adaugă valoarea citită la termobarometru (în diviziuni); dacă garnitura termobarometru nu înregistrează nici o deviere, lichidul Brodie rămînînd la diviziunea 150, citirea de la garnitura cu material vegetal reprezintă chiar devierea reală[1].

e. Se deschid robinetele manometrelor, se oprește încălzirea băii termostat, se deconectează sistemul de iluminare, se deconectează instalația de la rețeaua de curent electric, se scot garniturile vas de reacție-manometru din baia termostat și se detașează vasele de reacție de pe conurile de racordare ale manometrelor, după care se fixează manometrele la stativ și se curăță vasele de reacție.

f. În momentul scoaterii materialului vegetal din vasul de reacție, în funcție de natura acestuia se procedează în modul următor:

— În cazul cînd determinarea s-a făcut cu ramuri de plante acvatice submerse, se cîntărește ramura care a fost în vasul de reacție, după ce a fost scuturată bine pentru a îndepărta apa de pe suprafața ei. Dacă intensitatea fotosintezei urmează să fie raportată la masa uscată a materialului vegetal, se usucă ramura pînă la masă constantă, după procedeul descris în paragraful 1.3.3.6.

— În cazul cînd determinarea s-a făcut pe suspensii de alge unicelulare, se stabilește numărul lor pe unitatea de volum de suspensie, utilizînd la numărare, care se face conform procedeului descris în paragraful 7.2.3.1, suspensia din care s-a luat fracțiunea folosită la determinare și după stabilirea numărului de celule existente în unitatea de volum din această suspensie, se calculează, printr-o regulă de trei simplă, numărul de celule algale care au fost introduse în vasul de reacție.

g. Se calculează pentru garnitura vas de reacție-manometru în care a fost materialul vegetal, constanta garniturii (K), valabilă pentru condițiile de încărcare a vasului de reacție dat. Constanta se calculează după formula:

$$K = \frac{(V - V_1) \cdot \frac{273}{T} + V_1 \alpha}{P},$$

în care:

V = volumul sistemului închis al garniturii vas de reacție-manometru (volumul vasului de reacție + volumul ramificației laterale

[1] Din aceste considerente, făcute cu scop didactic, pentru înțelegerea modului de interpretare a rolului termobarometrului și a modului de efectuare a corecțiilor necesare pentru aflarea devierii reale, rezultă că devierea reală (h) poate fi aflată prin scăderea directă din citirea făcută la garnitura cu material vegetal, a citirii făcute la garnitura termobarometru. De exemplu, dacă după restabilirea volumului inițial, la garnitura cu material vegetal lichidul Brodie s-a urcat în brațul deschis al manometrului la diviziunea 172, iar la termobarometru la diviziunea 153, devierea reală va fi egală cu 172—153=19 diviziuni.

a manometrului + volumul brațului cu robinet al acestuia, de la robinet pînă la diviziunea 150), în mm^3;

V_1 = volumul materialelor introduse în vasul de reacție (material vegetal, apă, reactivi), în mm^3;

273 = temperatura absolută (în °C);

T = 273°C + temperatura de lucru (în °C);

α = coeficientul de solubilitate a gazului urmărit, la temperatura de lucru, în apă. Valoarea acestuia se ia din tabelul 3.9, iar în cazul cînd se lucrează la alte temperaturi decît cele specificate în tabel, se calculează[1];

P_0 = 10 000 și reprezintă înălțimea coloanei de lichid Brodie, în mm, care corespunde la 760 mm coloană de mercur, adică presiunii atmosferice standard.

După stabilirea constantei, se calculează intensitatea fotosintezei, aplicînd, în funcție de particularitățile materialului vegetal, una din următoarele formule:

— În cazul cînd determinarea se face la plantele superioare submerse, intensitatea fotosintezei va fi dată de relația:

$$\frac{mm^3 O_2 \cdot 60}{m \cdot t},$$

în care:

$mm^3 O_2$ = valoarea obținută prin înmulțirea constantei garniturii în care a fost materialul vegetal, cu devierea reală;

60 = coeficient pentru raportarea intensității fotosintezei la unitatea de timp (o oră);

m = masa materialului vegetal proaspăt sau uscat (în grame);

t = durata determinării (în minute).

TABELUL 3.9

Coeficienții de solubilitate ai CO_2 și O_2 în apă la diferite temperaturi

Temperatura (°C)	O_2	CO_2
0	0,0489	1,713
10	0,0380	1,194
20	0,0310	0,878
30	0,0262	0,665
40	0,0231	0,530

— La suspensiile de alge unicelulare, intensitatea fotosintezei se obține aplicînd relația:

$$\frac{mm^3 O_2 \cdot 60 \cdot A}{t \cdot B},$$

în care:

A = 1 000 000, întrucît raportarea intensității fotosintezei se face la un milion de celule;

B = numărul de celule din volumul de suspensie folosit la determinare.

[1] De exemplu, pentru temperatura de 25°C coeficientul de solubilitate al oxigenului în apă se calculează astfel: se face diferența dintre valorile date în tabel pentru temperaturile de 20°C, respectiv 30°C; 0,0310—0,0262=0,0048; valoarea obținută se împarte la 2 pentru a afla diferența care corespunde la 5°C: 0,0048 : 2=0,0024; rezultatul obținut se scade din valoarea dată pentru temperatura de 30°C: 0,0310— —0,0024=0,0286; deci, pentru temperatura de lucru, de 25°C (temperatura băii termostat) valoarea coeficientului de solubilitate a oxigenului în apă va fi de 0,0286. La calcularea constantei, pentru determinările făcute cu scop didactic, se poate renunța la introducerea în calcul a produsului $V_1\alpha$, deoarece influențează extrem de puțin valoarea ce va fi obținută.

Ceilalți termeni au aceeași semnificație ca în formula precedentă.

— La frunzele plantelor terestre se utilizează formula dată pentru calcularea intensității fotosintezei plantelor superioare submerse, cu deosebirea că în locul lui m (care reprezintă masa materialului vegetal) se introduce valoarea *S*, care reprezintă suprafața decupată din limb (în dm^2) și introdusă în vasul de reacție.

La plantele superioare submerse intensitatea fotosintezei se exprimă în $mm^3 O_2/g/h$, la suspensiile de alge unicelulare în $mm^3 O_2$/milion celule/h, iar la plantele superioare terestre în $mm^3 O_2/dm^2/h$.

3.4.1.3. Procedeul gravimetric

Determinarea intensității fotosintezei după acest procedeu se bazează pe aflarea cantității de substanțe organice sintetizate într-un anumit interval de timp, de unitatea de suprafață a materialului vegetal luat în cercetare.

Pentru determinare se aleg, dimineața devreme, două loturi de cîte 10 frunze (lotul I și lotul II), marcîndu-le prin legarea unor bucăți de ață sau sfoară în jurul pețiolurilor lor.

Din frunzele fiecărui lot se taie cîte o jumătate de limb, astfel ca jumătatea cealaltă să rămînă pe plantă, împreună cu nervura mediană.

După recoltare, jumătățile de limb rămase pe frunzele din lotul II se învelesc cu hîrtie neagră, care se fixează pe ele cu ajutorul unor agrafe.

Jumătățile de limb recoltate se spală cu apă, separat pentru fiecare lot, pentru a îndepărta particulele de praf sau celelalte impurități de pe suprafața lor și se scufundă apoi în cîte un cristalizor cu apă, în care se țin timp de 30 de minute, cu scopul ca să devină turgescente, ca suprafața lor să poată fi comparabilă cu a celor ce se vor recolta ulterior și ca să se poată extrage mai ușor rondele din ele. După scurgerea acestui interval de timp, se scot, separat pentru fiecare lot, cîte 10 rondele din fiecare jumătate de limb, folosind un perforator de dopuri și evitînd, pe cît posibil, zonele cu nervuri mai evidente. Pentru scoaterea rondelelor, jumătățile de limb se așază, pe rînd, pe un dop mai mare de cauciuc, ca să se poată perfora mai ușor. Rondelele extrase se introduc, separat pentru fiecare lot, în cîte o fiolă de cîntărit și li se determină masa în stare uscată, după procedeul prezentat în paragraful 1.3.3.6.

După 4—8 sau 12 ore, se recoltează și jumătățile de limb rămase pe plantă, separat pentru fiecare lot și se extrag din ele, procedînd în modul descris anterior, cîte 10 rondele din fiecare, după care li se determină, separat pe cele două loturi, masa în stare uscată.

Diferența dintre masa uscată a rondelelor prelevate la sfîrșitul și începutul determinării, de la frunzele din lotul I, va indica o parte din substanțele organice produse prin fotosinteză în timpul determinării, iar diferența dintre masa uscată a rondelelor prelevate dimineața și la sfîrșitul determinării de la frunzele din lotul II, va reprezenta cantitatea de substanțe organice care au fost consumate în respirație și cantitatea din aceste substanțe care a fost transportată în celelalte organe ale plantei, în timpul determinării. Prin însumarea acestor diferențe se află cantitatea totală de substanțe organice produse în intervalul de timp cît a durat determinarea.

TABELUL 3.10

Determinarea intensității fotosintezei la . . . . . prin procedeul gravimetric

Lotul de frunze	Ora recoltării	Nr. rondelelor	Suprafața rondelelor (dm^2)	Masa rondelelor uscate (g)	Diferența de masă (g)	Intensitatea fotosintezei (g substanță uscată/dm^2/h)
I	inițial					
	final					
II	inițial					
	final					

Toate datele referitoare la parametrii necesari pentru determinare se înscriu într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 3.10.

Pentru aflarea intensității fotosintezei, se calculează întîi, cunoscînd diametrul perforatorului, suprafața rondelelor de la fiecare prelevare (în dm^2), aplicînd relația:

$$\pi r^2 \cdot 100,$$

în care 100 reprezintă numărul rondelelor.

Intensitatea fotosintezei se calculează după formula:

$$\frac{D_1 + D_2}{t \cdot s},$$

în care:

D_1=diferența (în mg substanță uscată) dintre masa rondelelor prelevate la sfîrșitul și la începutul determinării, de la lotul I de frunze;

D_2=diferența (în mg substanță uscată) dintre masa rondelelor prelevate dimineața și la sfîrșitul determinării, de la frunzele din lotul II;

t=durata determinării (în ore);

s=suprafața loturilor de cîte 100 de rondele prelevate (în dm^2).

Intensitatea fotosintezei se exprimă în mg substanțe organice/dm^2/h.

4

TRANSLOCAȚIA SUBSTANȚELOR ORGANICE ÎN PLANTE

O mare parte din substanțele sintetizate în țesuturile clorofiliene migrează către alte organe, unde sînt utilizate imediat în procesele de creștere și de întreținere celulară, sau depuse ca rezerve. În anumite perioade ale ciclului vital rezervele depuse pot fi solubilizate și pot migra către locurile de consum. Marile curente de migrație ale substanțelor organice se modifică în cursul ciclului vegetativ: același organ poate să reprezinte locul către care converg mari cantități de substanțe elaborate, sau, în altă perioadă din viața plantelor, punctul de plecare al substanțelor organice. Sensul translocației se schimbă puternic la începutul înfloririi: toate rezervele acumulate în rădăcini și tulpini, toți produșii noi de fotosinteză sînt dirijați către zonele de fructificare, astfel încît la speciile anuale are loc o epuizare definitivă a aparatului vegetativ, fiind exportate chiar și zaharurile din membranele scheletice (hemicelulozele). Prin urmare, substanțele elaborate în cursul anabolismului migrează în plante într-o cantitate care este apreciabilă în anumite perioade ale ciclului lor vital (la reluarea vegetației primăvara, sau în timpul înfloritului). Aceste substanțe migrează întotdeauna sub formă dizolvată.

4.1. MIGRAȚIA ASIMILATELOR DIN FRUNZE

Majoritatea substanțelor organice sintetizate în frunze sînt transferate din ele după ce frunzele îmbătrînesc. Frunzele tinere nu exportă ci primesc substanțe elaborate. Migrațiunea asimilatelor din frunze poate fi evidențiată, respectiv determinată cantitativ prin următoarele experimente:

a. Evidențierea migrației asimilatelor din frunze. Se recoltează spre sfîrșitul unei zile senine, din partea inferioară a coroanei unui arbore, o frunză căreia i se face proba cu iod a lui Sachs, conform procedeului prezentat în paragraful 3.1.2. a. Se va constata că frunza se va colora în albastru, datorită reacției dintre iod și amidon. În zorii dimineții următoare se recoltează din aceeași zonă a coroanei o altă frunză, căreia i se face în același mod proba cu iod a lui Sachs. Se va constata că ea nu se mai colorează în albastru deoarece în timpul nopții amidonul acumulat în organele de asimilație în cursul perioadei de lumină a zilei a migrat în celelalte organe ale plantei.

b. *Evidențierea migrației asimilatelor din frunze prin procedeul gravimetric.* Prin migrarea în timpul nopții a substanțelor asimilate de frunze în cursul perioadei de lumină a zilei, ele pierd circa a 10-a parte din masa lor uscată înregistrată seara.

Pentru determinare, se recoltează seara, la sfîrșitul unei zile senine, un număr de 5—10 jumătăți de limb de la o plantă cu frunze simetrice,

TABELUL 4.1

Migraţiunea substanţelor sintetizate din frunze

Specia	Momentul recoltării	Numărul jumătăţilor de frunze recoltate[1]	Numărul fiolei	Masa fiolei goale (g)	Masa fiolei cu substanţa uscată (g)	Masa substanţei uscate (g)	Cantitatea substanţei migrate (g)
	seara						
	dimineaţa						

[1] În cazul cînd se lucrează cu foliolele unor frunze penat compuse, în această coloană se trece numărul foliolelor recoltate.

sau foliolele de pe o parte a unor frunze penat compuse, cărora li se determină substanţa uscată, după procedeul prezentat în paragraful 1.1.1. În zorii zilei următoare se recoltează celelalte jumătăţi ale frunzelor luate în studiu, sau foliolele de pe cealaltă parte a frunzelor penat compuse şi li se determină, de asemenea, masa uscată. Diferenţa dintre cele două cîntăriri reprezintă cantitatea de substanţe organice migrate din frunze în timpul nopţii. Rezultatul se poate exprima în valoare absolută, direct la numărul de jumătăţi de limb sau de foliole care au fost luate la analiză, fără să se recurgă la raportarea procentuală a substanţei uscate. Datele obţinute se trec într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 4.1. Raportarea cantităţii de substanţe organice exportate din frunze se poate face şi la suprafaţa foliară, care se determină imediat după recoltarea jumătăţilor de limb sau a foliolelor, utilizînd procedeul prezentat în paragraful 1.5.1.2.1.1.

4.2. CĂILE DE CONDUCERE A SEVEI ELABORATE

Asimilatele pot fi conduse prin toate celulele vii, în special în parenchimurile frunzelor sau organelor de rezervă, însă migraţia masivă şi rapidă dintr-un loc în altul al organelor sau de la un organ la altul se face prin tuburile ciuruite ale liberului. O cantitate, mai mult sau mai puţin importantă, de substanţe organice migrează şi prin lemn: este cazul substanţelor de rezervă depuse în razele medulare ale lemnului secundar din trunchiurile şi rădăcinile arborilor, sau ale celor depuse în parenchimurile lemnoase din rădăcinile de ridiche, *Tragopogon*, *Scorzonera* etc.

4.2.1. CONDUCEREA SEVEI ELABORATE PRIN NERVURI

Migrarea substanţelor organice, sub formă de soluţie apoasă, din frunze are loc prin nervuri.

Pentru evidenţierea acestui proces se secţionează cu atenţie în seara unei zile senine, folosind o lamă de ras, nervurile de pe jumătatea inferioară a unei frunze cu nervaţiunea palmată (arţar, viţă de vie etc.). întrerupînd astfel continuitatea fasciculelor liberiene (fig. 4.1). În

dimineața următoare se detașează frunza de pe plantă și i se face proba cu iod a lui Sachs, conform procedeului prezentat în paragraful 3.1.2 a. Se va constata că jumătatea limbului cu nervurile secționate dă o reacție pozitivă întrucît porțiunea de limb în care se găsesc aceste nervuri se colorează în albastru, iar cealaltă jumătate nu se colorează deoarece asimilatele au migrat din porțiunea respectivă a limbului prin nervurile intacte. Dacă, într-un experiment paralel, se secționează nervurile pe partea superioară a unei jumătăți a limbului frunzei, întrerupînd astfel continuitatea vaselor de lemn, proba cu iod a lui Sachs va fi negativă și în jumătatea de limb cu nervurile secționate, ceea ce arată că la acest nivel substanțele organice nu circulă decît prin liber.

Fig. 4.1. Secționarea nervurilor pe fața inferioară a limbului frunzei împiedică migrarea asimilatelor din porțiunea de limb în care se ramifică nervurile secționate (săgețile marchează locurile în care trebuie secționate nervurile).

4.2.2. CONDUCEREA SEVEI ELABORATE PRIN TULPINI

Prin tulpini conducerea sevei elaborate are loc, îndeosebi, tot prin intermediul tuburilor ciuruite din fasciculele liberiene, fapt care se poate dovedi prin intervenții de decorticare inelară și scalariformă.

4.2.2.1. Experimente de decorticare inelară

Experimentele de decorticare inelară, care au fost inițiate încă în 1675 de către M. Malpighi, au dus la constatarea că în cazul cînd aceasta este efectuată la baza arborilor, ea determină încetinirea creșterii rădăcinilor. În aceste condiții substanțele elaborate în frunze în cursul procesului de fotosinteză, indispensabile creșterii rădăcinilor, nu mai pot ajunge la aceste organe. Aceste substanțe circulă deci de la frunze către rădăcini, în sens descendent prin țesuturile întrerupte prin decorticarea inelară. Cercetările ulterioare au stabilit însă că transportul substanțelor organice prin tuburile ciuruite poate avea loc în ambele sensuri în lungul plantelor, ba chiar în sensuri diferite în același moment și în același organ.

Conducerea substanțelor organice prin elementele liberiene poate fi pusă în evidență prin următoarele experimente:

a. Se efectuează în cursul perioadei de viață activă o decorticare inelară la baza unui lăstar, cu ajutorul unui cuțit ascuțit, îndepărtînd suberul, scoarța și liberul. Lemnul, care în urma acestei intervenții rămîne dezvelit, se rade cu precauțiune pentru a îndepărta resturile de

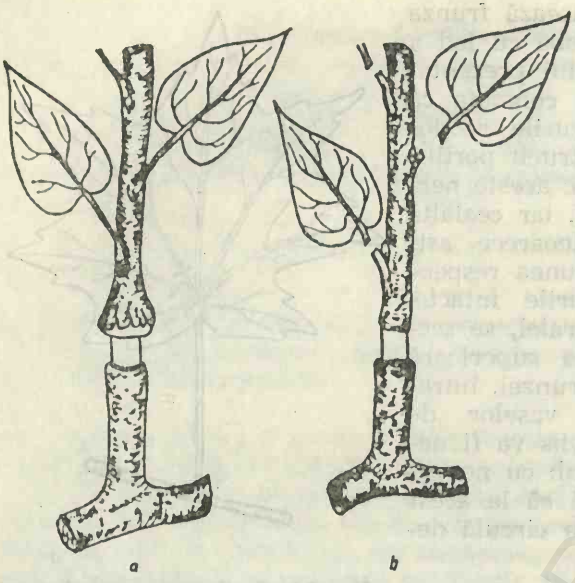


Fig. 4.2. Circulația descendentă a sevei elaborate:
a – prezența frunzelor deasupra zonei decorticate determină formarea calusului de cicatrizare; b – în lipsa frunzelor calusul nu se mai formează.

liber și apoi se acoperă cu ceară de altoire pentru a împiedica uscarea lui. După un timp se va putea constata că la baza superioară a decorticării apare un calus de cicatrizare și o proliferare masivă a țesuturilor (fig. 4.2 a). Proliferarea abundentă a țesuturilor se datorește aportului masiv de sevă elaborată, ajunsă în această zonă prin conducere descendentă, care nu mai poate migra mai departe în lipsa țesutului liberian.

Decorticînd în același mod un alt lăstar, care a fost însă desfrunzit în prealabil, se va constata că proliferarea abundentă a țesuturilor de deasupra buzei superioare a decorticării nu mai are loc și nici mugurii nu se mai desfac, deoarece, lipsind frunzele, seva elaborată nu se mai poate forma și lăstarul nu poate primi această sevă nici din alte zone ale tulpinii, din cauza decorticării inelare (fig. 4.2 b).

Desfrunzind un al treilea lăstar, dar fără a i se face decorticarea inelară, după un timp se va constata că mugurii lui se desfac formînd noi frunzulițe, ca urmare a faptului că ei au primit materialul plastic necesar neosintezelor prin conducerea abundentă a sevei elaborate, care a transportat produșii de asimilație din părțile inferioare ale tulpinii, în raport cu locul din care pornește lăstarul (fig. 4.3).

b. Conducerea ascendentă a sevei elaborate prin elementele liberiene poate fi evidențiată ușor în laborator prin procedeul C u r t i s. În acest scop se aleg, în perioada de repaus hibernal, două segmente identice de ramuri de soc, liliac, oțetar etc., care să posede la partea apicală muguri viguroși. Unuia dintre aceste segmente i se face o decorticare inelară în jumătatea lui inferioară, iar celuilalt imediat sub muguri. Se introduc segmentele cu baza în cîte un vas cu apă și, schimbînd apa la 2—3 zile, se va constata că mugurii se desfac și formează frunze numai pe segmentul la care decorticarea inelară a fost făcută în porțiunea lui inferioară (fig. 4.4). Explicația constă în faptul că mugurii de pe acest segment au primit, pe lîngă apă, substanțele organice necesare neosintezelor, din seva elaborată aflată în tuburile ciuruite, în timp ce la segmentul celălalt, decorticarea inelară efectuată imediat sub muguri a împiedicat aportul unei cantități suficiente de material plastic pentru a putea avea loc creșterea mugurilor.

Fig. 4.3. Circulația ascendentă a sevei elaborate: în lipsa frunzelor mugurii primesc sevă din părțile inferioare ale plantei.

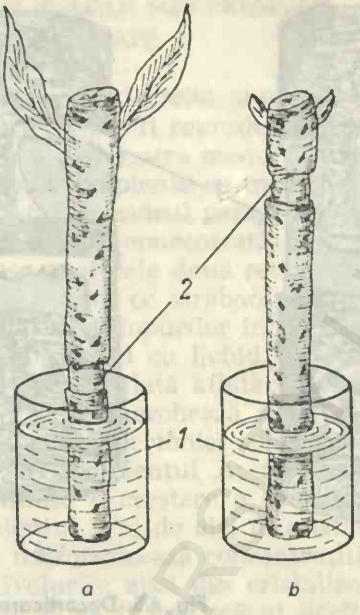


Fig. 4.4. Evidențierea circulației ascendente a sevei elaborate: a — cantitatea de sevă elaborată aflată în tuburile ciuruite ale segmentului de ramură este suficientă pentru neosintezele necesare deschiderii mugurilor; b — cantitatea mică de sevă elaborată ajunsă în muguri este insuficientă pentru deschiderea lor; 1 — vase cu apă; 2 — decorticări inelare.

4.2.2.2. Decorticarea scalariformă

Acest procedeu permite evidențierea cu și mai multă precizie a căilor de conducere a sevei elaborate[1]. Tehnica se bazează pe păstrarea la o decorticare inelară a unei porțiuni nevătămate, sub forma unei trepte de scară, care să mențină legătura dintre buza de sus și cea de jos a decorticării (fig. 4.5). Experimentul se efectuează pe tulpini sau ramuri nedetașate și, după operație, se protejează lemnul rămas descoperit, prin ungerea lui cu ceară de altoire. După un timp de la efectuarea operației se va putea constata că se formează calusul de cicatrizare numai pe marginile rănii unde ajung tuburile ciuruite neîntrerupte (fig. 4.5 a).

[1] Urmărind să stabilească dacă și parenchimul cortical are rol în conducerea sevei elaborate, așa cum afirma J. Sachs, în contradicție cu Hanstein, profesorii români Em. C. Teodorescu și C. T. Popescu au efectuat, în 1915, o serie de experimentări folosind procedeul decorticării scalariforme, aplicat la diferite specii de arbori.

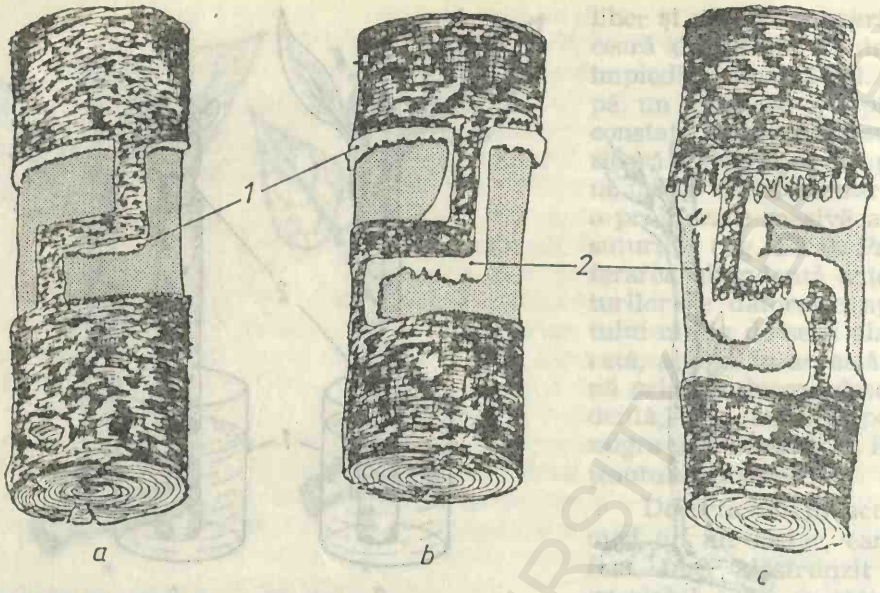


Fig. 4.5. Decorticarea scalariformă:

a — calusul de cicatrizare apare, la început, numai pe marginile rănii la care ajung tuburile ciuruite neîntrerupte; b — calusul înaintează pe părțile laterale și pe partea inferioară a punții, stabilind legătura între partea superioară și cea inferioară a decorticării; c — calusul cu liberul nou format progresează foarte activ și are tendința să acopere suprafața lemnului din zona decorticată: 1 — calus de cicatrizare; 2 — calus de cicatrizare și liber nou format.

Calusul se dezvoltă în continuare, stabilind legătura între partea superioară și cea inferioară a decorticării (fig. 4.5 b). Calusul cu liberul nou format progresează foarte activ, tinzînd să acopere o suprafață cît mai mare din lemnul descoperit (fig. 4.5 c). La început se îngroașă numai partea de deasupra decorticării, dar, după ce se realizează legătura, se îngroașă și porțiunea limitrofă cu partea inferioară a decorticării. Parenchimul cortical rămîne aproape neîngroșat, în timp ce liberul proliferează foarte activ. Tuburile ciuruite neoformate sînt orientate paralel cu puntea transversală, fapt ce dovedește rolul activ al acestora în conducerea sevei elaborate.

Experimentările de decorticare scalariformă arată că seva elaborată este condusă foarte slab prin parenchimul cortical, dar foarte activ prin tuburile ciuruite.

Experimentelor de decorticare li se poate aduce următoarea critică: singura parte funcțională a lemnului, alburnul, este adesea lipit de liber și foarte fragil; ca atare leziunea datorată decorticării provoacă uneori formarea tilelor și a gumelor în alburn, ceea ce îngreunează circulația apei la nivelul decorticării.

4.3. MECANISMUL CONDUCERII SEVEI ELABORATE

Cauzele care determină conducerea substanțelor elaborate prin liber nu sînt perfect cunoscute. Ele se reduc la diverse ipoteze care caută să țină cont cît mai mult posibil de caracteristicile acestei conduceri.

4.3.1. IPOTEZA TRANSPORTULUI SUB PRESIUNE A SEVEI ELABORATE

Transportul în masă a sevei elaborate, datorită presiunii hidrostatice ce se crează în sistemul de conducere, poate fi reprodus printr-un model fizic, conceput de M ü n c h. Pentru a demonstra modul în care se realizează acest transport se pregătesc două recipiente cu membrană semipermeabilă (conform procedeului prezentat în cadrul paragrafului 1.2.3.1.2.2) și se umple unul din ele (A) cu o soluție concentrată de zaharoză, iar celălalt (B) cu apă distilată. Se unesc apoi cele două recipiente printr-un tub de sticlă, cu diametrul de circa 3 mm, ce străbate dopurile cu care se astupă recipientele. În momentul fixării dopurilor în recipientele pline pînă la refuz, tubul de sticlă se umple și el cu lichid. Se introduc apoi ambele recipiente cu membrana în apa distilată aflată în cîte un cristalizor, se fixează la stative (fig. 4.6) și se marchează nivelurile apei din cele două cristalizoare (C și D). Datorită hipertoniei soluției de zaharoză, apa din cristalizatorul C pătrunde în recipientul A; se formează astfel un curent endosmotic care, determinînd o creștere a presiunii hidrostatice în A, împinge lichidul în recipientul B și de aici în cristalizatorul D. Sistemul funcționează pînă cînd se uniformizează concentrațiile soluțiilor în recipientele A și B, astfel că nivelurile apei din cristalizoare se stabilizează în sensul că în cristalizorul C va fi mai scăzut decît cel inițial, iar în D mai crescut.

Acest model poate fi analogat cu sistemul de conducere a sevei brute: în cazul unei plante centrul de formare a zaharurilor solubile (recipientul A) este reprezentat prin frunze, iar centrul de condensare (de destina-

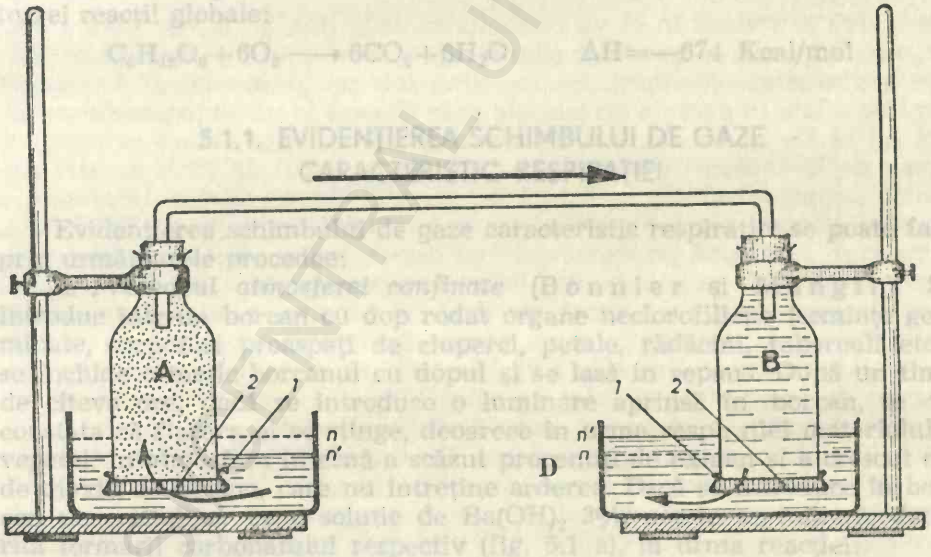
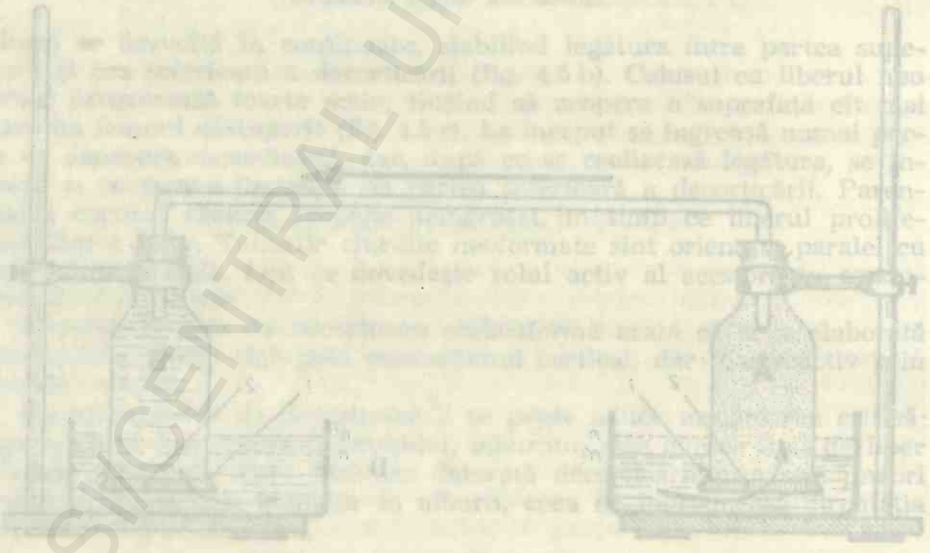


Fig. 4.6. Modelul lui Münch pentru demonstrarea circulației sub presiune a apei:

1 – celofan; 2 – strat de gelatină în porii căruia s-a format precipitatul semipermeabil de $Cu Fe(CN)_6$; n – nivelul inițial al apei din vasele în care se găsesc recipientele; n′ – nivelul final al apei din vase; A – recipient cu soluție de zaharoză; B – recipient cu apă distilată (săgeata arată sensul conducerii soluției de zaharoză prin tubul de sticlă care unește cele două osmometre).

ție) a zaharurilor (recipientul B) este reprezentat prin organele de rezervă sau de creștere activă; tubul de sticlă poate fi analogat cu liberul, iar cristalizoarele C și D, în care se află un lichid cu presiune osmotică slabă, pot fi analogate cu vasele de lemn.

Acest model fizic explică doar unele particularități ale conducerii sevei elaborate și anume numai cazul cînd aceasta se deplasează într-adevăr sub presiune. Translocația în liber este însă legată și de o oarecare activitate metabolică a tuburilor ciuruite, astfel încît nu este o conducere pasivă a unui lichid, fără nici o modificare în timpul parcursului.



BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

5

RESPIRAȚIA PLANTELOR

În cursul proceselor endergonice ale anabolismului se sintetizează în plante substanțe organice, în care energia luminoasă este acumulată sub formă de energie chimică potențială. O parte din această energie este eliberată, treptat, în procesele exergonice ale catabolismului și folosită de către plante în desfășurarea fenomenelor vitale, sau este degajată sub formă de energie calorică, electrică, luminoasă sau mecanică.

Substanțele produse în cursul fotosintezei, purtătoare de energie și reprezentate printr-un lanț mai mult sau mai puțin complex format din carboni reduși, eliberează energia mai ales prin oxidare respiratorie; în măsură mai redusă, energia este obținută și prin procese de fermentație, precum și prin hidroliza metabolitelor complexe în compuși mai simpli.

5.1. MANIFESTĂRILE EXTERIOARE ALE RESPIRAȚIEI

În cursul respirației are loc un schimb de gaze, care se soldează cu oxidarea completă a catabolitelor pînă la CO_2 și H_2O, conform următoarei reacții globale:

$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \longrightarrow 6CO_2 + 6H_2O \qquad \Delta H = -674 \text{ Kcal/mol}$$

5.1.1. EVIDENȚIEREA SCHIMBULUI DE GAZE CARACTERISTIC RESPIRAȚIEI

Evidențierea schimbului de gaze caracteristic respirației se poate face prin următoarele procedee:

a. *Procedeul atmosferei confinate* (Bonnier și Mangin). Se introduc într-un borcan cu dop rodat organe neclorofiliene (semințe germinate, carpofori proaspeți de ciuperci, petale, rădăcini, tuberculi etc.), se închide ermetic borcanul cu dopul și se lasă în repaus. După un timp de cîteva ore, dacă se introduce o lumînare aprinsă în borcan, se va constata că flacăra ei se stinge, deoarece în urma respirației materialului vegetal, în atmosfera internă a scăzut procentul de oxigen și a crescut cel de dioxid de carbon, care nu întreține arderea. Dacă se introduce în borcan un cristalizor cu o soluție de $Ba(OH)_2$ 3%, acesta se tulbură, datorită formării carbonatului respectiv (fig. 5.1 a), în urma reacției:

$$Ba(OH)_2 + CO_2 \longrightarrow BaCO_3 + H_2O$$

În cazul cînd materialul vegetal conține pigmenți clorofilieni, acumularea de CO_2 în atmosfera din interiorul borcanului are loc numai la întuneric, deoarece la lumină el este utilizat în fotosinteză, astfel încît respirația este mascată. În cazul cînd borcanul a fost ținut la lumină,

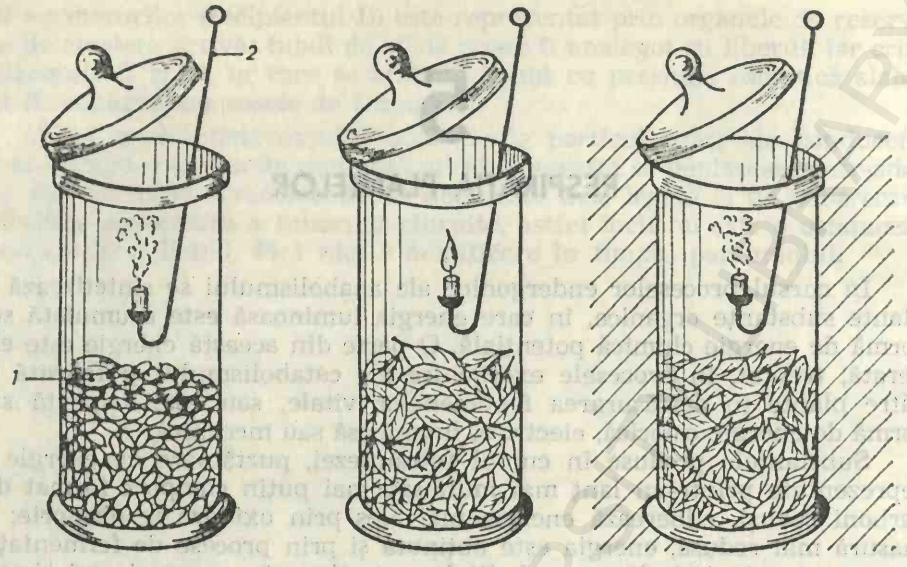


Fig. 5.1. Evidențierea schimburilor gazoase din cursul respirației, prin procedeul atmosferei confinate:

a — organele neclorofiliene absorb oxigen și elimină dioxid de carbon; b — organele clorofiliene, la lumină, absorb dioxid de carbon și elimină oxigen, mascînd schimburile gazoase respiratorii; c — la întuneric, organele clorofiliene au aceleași schimburi gazoase ca și cele neclorofiliene; 1 — cristalizor cu soluție de $Ba(OH)_2$; 2 — luminare fixată pe o tije.

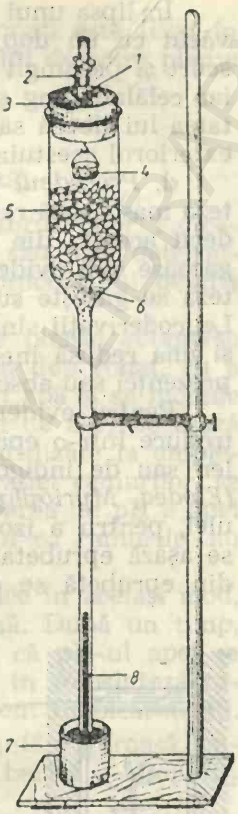
lumînarea introdusă în el va continua să ardă (fig. 5.1 b), iar dacă a fost ținut în întuneric se va stinge (fig. 5.1 c).

b. *Procedeul Molliard.* Se introduc într-un „osmometru" Dutrôchet semințe aflate în curs de germinație și se fixează la un stativ, astfel ca tubul lui să fie scufundat într-un vas cu mercur. După fixare se deschide clema de la capătul tubului de cauciuc de pe tubul de sticlă ce străbate dopul „osmometrului", se atîrnă de cîrligul de pe partea inferioară a dopului un vas mic în care s-a pus în prealabil o soluție de KOH 30%, după care se astupă „osmometrul" cu dopul, lăsînd clema deschisă pentru a uniformiza presiunea din interior cu cea externă. Se închide apoi bine clema și după un interval de timp, în funcție de intensitatea respirației materialului vegetal, se va putea constata că mercurul se va urca în tubul „osmometrului" (fig. 5.2). Mercurul se urcă în tub deoarece CO_2 degajat de semințe fiind fixat de către hidrat, nu mai compensează sub raportul presiunii oxigenul absorbit în respirație, astfel că presiunea internă scade în raport cu exteriorul. Cu timpul se va constata că înălțimea coloanei de mercur atinge circa 152 mm și va rămîne constantă, deoarece în acest moment coloana va reprezenta 1/5 din presiunea atmosferică normală, ceea ce denotă faptul că întreaga cantitate de oxigen din incintă a fost consumată. Această înălțime a coloanei de mercur se datorește faptului că oxigenul se găsește în aer în concentrația de 20,95%, concentrație care reprezintă aproximativ 1/5 din compoziția aerului și din valoarea presiunii atmosferice standard (760 mm coloană de mercur).

c. *Procedeul Godlevski.* Se ia un vas Kitassato, se prelungește tubulura lui laterală, prin intermediul unui tub de cauciuc, cu un tub de sticlă

Fig. 5.2. Procedeul Molliard:

1 — tub de sticlă; 2 — tub de cauciuc prevăzut cu o clemă Hoffmann; 3 — dop de cauciuc; 4 — vas cu soluție de KOH; 5 — semințe aflate în curs de germinație; 6 — vată; 7 — vas de porțelan umplut cu mercur; 8 — coloana de mercur urcă în tub, luînd locul CO_2 rezultat din respirație și fixat de hidrat sub formă de K_2CO_3.



îndoit în unghi drept și se umple, pînă la o treime din volumul lui, cu semințe aflate în curs de germinație. Se introduce în vas o eprubetă umplută 2/3 din volumul ei cu o soluție de hidroxid de sodiu sau potasiu 30% și se astupă vasul cu un dop străbătut de un tub de sticlă prelungit la exterior cu un tub scurt de cauciuc, prevăzut cu o clemă, care se lasă deschisă. Se introduce tubulura laterală a vasului într-un mic pahar Berzelius, care conține o soluție de albastru de metilen sau cerneală, se închide bine clema și se lasă vasul în repaus. După un timp, care este în funcție de intensitatea respirației semințelor, se va observa că soluția colorată urcă în tubulura laterală a vasului (fig. 5.3 a). Urcarea acestei soluții se datorește faptului că în timpul respirației semințele absorb oxigen și degajă dioxid de carbon, care este absorbit de soluția de hidroxid din eprubetă, cu formarea carbonatului respectiv, conform reacției:

$$2NaOH + CO_2 \longrightarrow Na_2CO_3 + H_2O$$

Ca rezultat, în balon se crează un deficit de presiune în raport cu presiunea externă și soluția colorată din paharul Berzelius urcă în tubulura laterală a vasului.

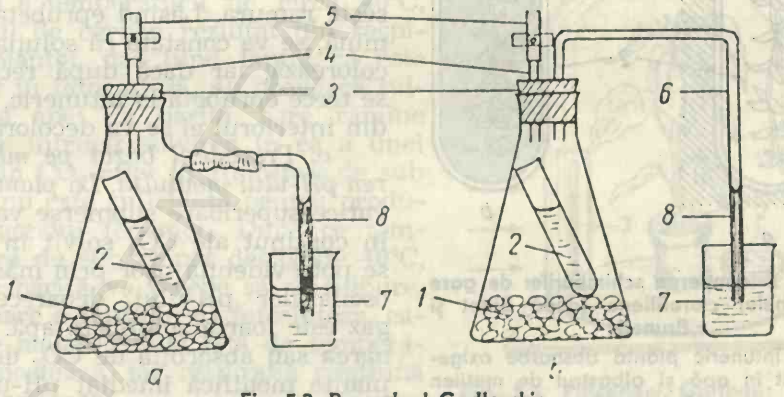


Fig. 5.3. Procedeul Godlevski:

a — varianta bazată pe utilizarea unui vas Kitassato; b — varianta bazată pe utilizarea unui balon Erlenmeyer; 1 — semințe germinate; 2 — eprubete cu soluție de hidroxid; 3 — dop de cauciuc; 4 — tub de sticlă; 5 — tub de cauciuc prevăzut cu o clemă Hoffmann; 6 — tub de sticlă îndoit de două ori în unghi drept; 7 — pahar Berzelius umplut cu o soluție colorată; 8 — colorantul se ridică în tubul de sticlă, luînd locul CO_2 degajat de materialul vegetal și fixat de soluția de hidroxid din eprubete sub forma carbonatului respectiv.

În lipsa unui vas Kitassato se poate folosi un balon Erlenmeyer prevăzut cu un dop străbătut de două tuburi de sticlă, dintre care unul scurt și prelungit la exterior cu un tub de cauciuc prevăzut cu o clemă, iar celălalt lung și îndoit de două ori în unghi drept, astfel ca extremitatea lui liberă să ajungă pînă aproape de nivelul fundului balonului, la exteriorul acestuia (fig. 5.3 b).

d. *Procedeul bazat pe utilizarea leucoderivaților.* La lumină fotosinteza maschează respirația, întrucît se desfășoară cu o intensitate mai mare decît aceasta din urmă. Ca urmare, la organele clorofiliene, schimburile gazoase sînt evidente doar în lumină de intensitate redusă, cînd fotosinteza se găsește sub punctul de compensație al luminii, sau la întuneric. Leucoderivații sînt substanțe ce pot oscila între o formă oxidată colorată și una redusă incoloră, fapt ce permite folosirea lor pentru evidențierea prezenței sau absenței oxigenului într-un mediu apos.

Pentru evidențierea schimbului de gaze prin acest procedeu, se introduce într-o eprubetă ce conține o soluție diluată de albastru de metilen sau de indigocarmin, o ramură a unei plante superioare submerse *(Elodea, Myriophyllum, Ceratophyllum),* se toarnă deasupra un strat de ulei, pentru a izola soluția din eprubetă de atmosfera înconjurătoare și se așază eprubeta la întuneric. Se va constata, după un timp, că soluția din eprubetă se decolorează deoarece oxigenul din mediul apos a fost consumat de ramură în respirație. Dacă se trece eprubeta la lumină, soluția din ea se recolorează deoarece în aceste condiții ramura degajă oxigen în fotosinteză (fig. 5.4).

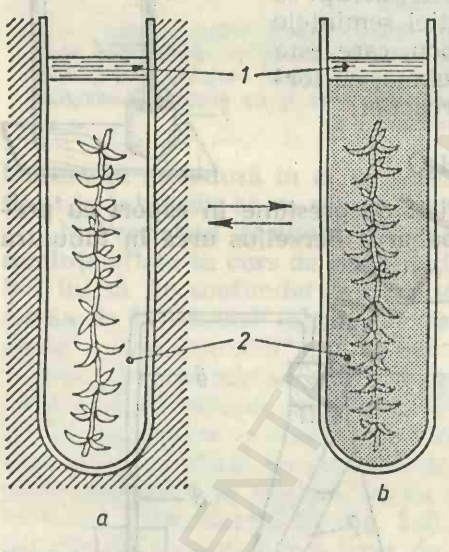


Fig. 5.4. Evidențierea schimburilor de gaze al organelor clorofiliene (după Binet și Brunel):

a — la întuneric planta absoarbe oxigenul solvit în apă și albastrul de metilen se reduce, trecînd în forma incoloră; b — la lumină planta elimină oxigen și forma redusă a albastrului de metilen se oxidează, recolorîndu-se; 1 — strat izolator de ulei; 2 — soluție diluată de albastru de metilen sub formă redusă (leucoderivat) în eprubeta din stînga și sub formă oxidată (colorată) în cea din dreapta.

O altă variantă a acestui procedeu constă în decolorarea în prealabil, cu ajutorul unui reducător cum este ditionitul (hidrosulfitul) de sodiu, a soluției de albastru de metilen sau de indigocarmin în care se găsește ramura. Lăsînd eprubeta la lumină, se va constata că soluția se recolorează, iar dacă după recolorare se trece eprubeta la întuneric, soluția din interiorul ei se va decolora.

e. *Procedeul bazat pe modificarea pH-ului mediului. La plantele* acvatice superioare submerse variațiile în conținut ale CO_2 solvit în mediu se pot evidenția ușor prin măsurarea oscilațiilor pH-ului, deoarece acest gaz este foarte solubil în apă. Eliminarea sau absorbția de CO_2 de către plante modifică imediat pH-ul apei.

La întuneric pH-ul scade deoarece CO_2 este eliminat în respirație:

$$CO_2 + H_2O \rightleftharpoons HCO_3^- + H^+$$

$$H^+ + H_2O \rightarrow H_3O^+$$

Reacția de ansamblu:

$$CO_2 + 2H_2O \rightarrow HCO_3 + H_3O^+$$

La lumină pH-ul crește deoarece CO_2 din bicarbonați este fixat în cursul procesului de fotosinteză, ca urmare a utilizării lui de către plante ca sursă de carbon pentru sinteza substanțelor organice:

$$HCO_3^- + H_2O \rightarrow H_2CO_3 + OH^-$$

$$H_2CO_3 \rightleftharpoons H_2O + CO_2 \text{ (redus în fotosinteză)}$$

Variațiile pH-ului apei pot fi evidențiate cu ajutorul unor indicatori adecvați (soluții de indicatori sau hîrtii indicator) sau prin determinarea pH-ului cu ajutorul unui pH-metru, conform procedeului descris la paragraful 10.1.

Pentru determinări se introduc cîteva ramuri de plante submerse *(Elodea, Myriophyllum, Ceratophyllum)* într-o sticlă cu dop rodat, cu o capacitate de 250—500 ml, după care se umple sticla cu apă și se închide cu dopul, astfel ca să nu rămînă în interiorul ei bule de aer. Se așază sticla la întuneric și se determină imediat pH-ul apei utilizate la umplerea ei. După un timp, în funcție de intensitatea respirației ramurilor, se determină pH-ul apei din sticlă. Se va constata că valoarea de pH a apei s-a micșorat față de cea inițială, ca urmare a faptului că ramurile au degajat CO_2 în respirație.

Evidențierea absorbției de CO_2 în fotosinteză se face în același mod, cu deosebirea că sticla cu ramurile se așază la lumină. După un timp, în funcție de intensitatea fotosintezei, se va constata că pH-ul apei se mărește față de valoarea inițială, datorită faptului că în fotosinteză ramurile absorb o parte din CO_2 solvit în apă sau existent în bicarbonați.

f. *Procedeul Garreau.* Se așază un ghiveci cu o plantă viguroasă, împreună cu un termometru și un cristalizor cu apă de barită — $Ba(OH)_2$ 3% — sub un clopot de sticlă fixat etanș pe un suport și expus la lumină solară directă (fig. 5.5). Se va constata că pînă la atingerea în interiorul clopotului a temperaturii de circa 40°C, dioxidul de carbon rezultat din respirația plantei, dat fiind faptul că este utilizat în fotosinteză, nu provoacă tulburarea apei de barită, care rămîne limpede întrucît solvirea în ea a unei părți din CO_2 aflat în atmosfera de sub clopot nu este suficientă pentru producerea acestui fenomen. După ce temperatura de sub clopot depășește 40°C, apa de barită va începe să se tulbure, ca urmare a faptului că fotosinteza, care este mai sensibilă față de temperatură, încetează, iar respirația continuă să se desfășoare.

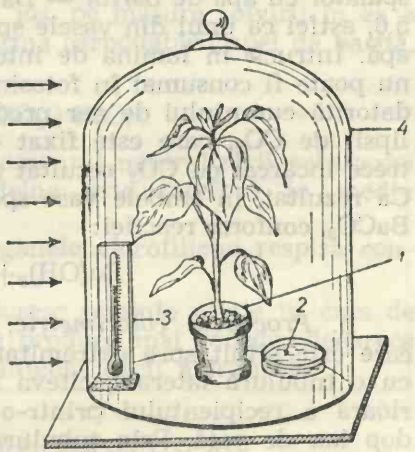


Fig. 5.5. Procedeul Garreau: la temperatura de peste 40°C apa de barită începe să se tulbure, deoarece fotosinteza încetează și respirația continuă să se manifeste:

1 — ghiveci cu plantă; 2 — cristalizor cu soluție de $Ba(OH)_2$; 3 — termometru; 4 — clopot de sticlă (săgețile indică direcția din care vine lumina solară).

g. *Procedeul Fleury* (modificat). În lumini de intensitate redusă respirația organelor clorofiliene este mai activă decît fotosinteza, fapt ce permite punerea în evidență a degajării de CO_2 în cursul acestui proces. În acest scop se pune sub un clopot mic de sticlă, pre-

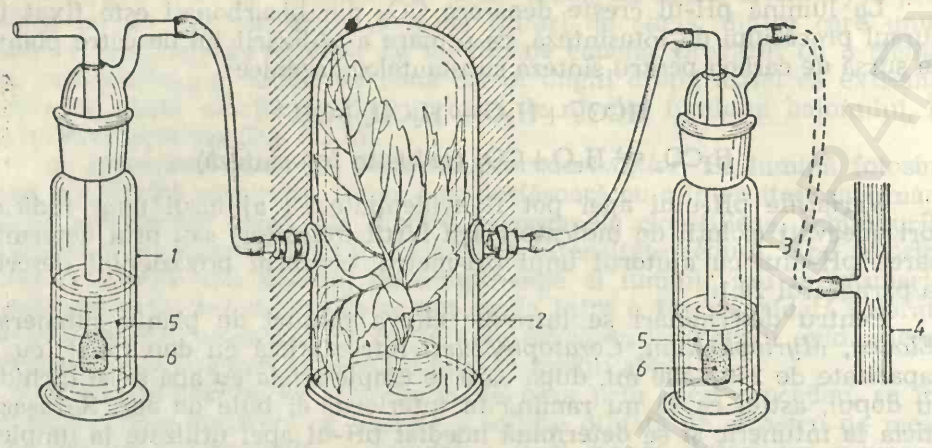


Fig. 5.6. Procedeul Fleury (modificat):

1 – vas spălător în care este fixat CO_2 din aerul atmosferic de către soluția de $Ba(OH)_2$; 2 – ramură cu frunze, pusă într-un pahar Berzelius cu apă, sub un clopot de sticlă așezat la lumină difuză; 3 – vas spălător cu hidroxid, în care este fixat CO_2 rezultat din respirația materialului vegetal, aflat sub clopot în lumină difuză; 4 – trompa de apă; 5 – soluție de $Ba(OH)_2$; 6 – frită.

văzut cu două orificii laterale, un pahar Berzelius cu apă, în care se așază o ramură cu frunze, se ung marginile clopotului cu vaselină și se introduc în jgheabul corespunzător al unui fund de lemn sau de material plastic. Se așază clopotul la lumină difuză și se racordează la cîte un vas spălător cu apă de barită — Ba $(OH)_2$ 3% —, conform schemei din figura 5.6, astfel ca unul din vasele spălătoare să fie în legătură cu o trompă de apă. Întrucît în lumina de intensitate redusă CO_2 eliminat în respirație nu poate fi consumat în fotosinteză, în urma deschiderii trompei de apă, datorită curentului de aer produs în sistem, aerul va ajunge la ramură lipsit de CO_2, care este fixat de apa de barită din vasul spălător 1 și trece încărcat cu CO_2 rezultat din respirația ramurii în vasul spălător 3. Ca rezultat, în ambele vase spălătoare se formează un precipitat alb de $BaCO_3$, conform reacției:

$$Ba(OH)_2 + CO_2 \rightarrow BaCO_3 + H_2O$$

h. *Procedeul colorimetric.* Se introduc într-un recipient de sticlă, care este gîtuit spre extremitatea inferioară și prevăzut în această zonă cu o tubulură laterală, cîteva frunze care sînt separate de partea inferioară a recipientului printr-o sită din material plastic sau printr-un dop lax de vată. Prin tubulura laterală a vasului se introduce apoi în partea lui inferioară o soluție de $Ba(OH)_2$ 1%, colorată în roz cu o soluție de fenolftaleină 1% (reactivul nr. 21), după care se astupă recipientul și se racordează cu orificiul inferior la un vas spălător, iar cu extremitatea superioară la o trompă de apă, conform schemei din figura 5.7. Se lasă recipientul în lumină difuză de intensitate redusă, pentru a limita fotosinteza, se deschide robinetul de apă și se trece prin instalație, timp de circa 5 minute, un curent de aer, cu scopul de a îndepărta CO_2 din incinta recipientului, după care se închid clemele (4 și 9) și se lasă recipientul în repaus. Se va constata după un timp că apa de barită va

B.C.U. „M. EMINESCU" IAȘI

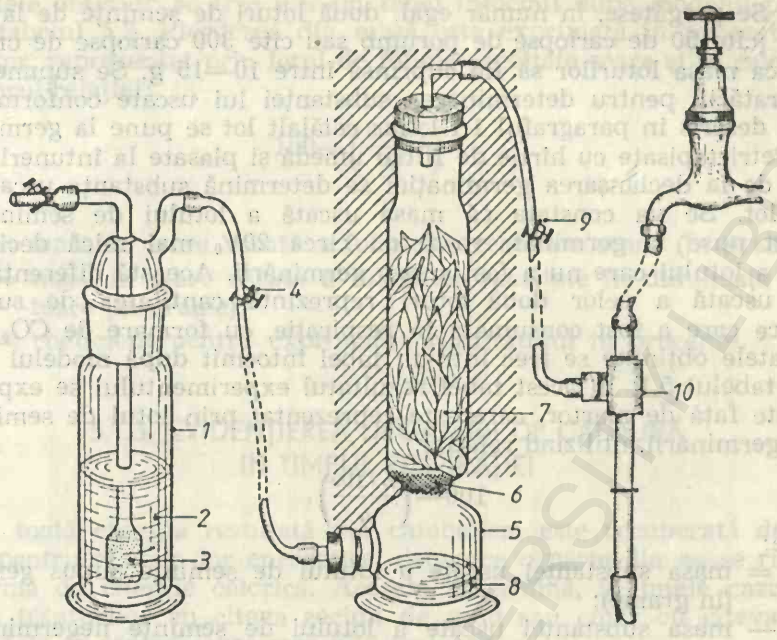


Fig. 5.7. Evidențierea respirației la organele clorofiliene ținute în lumină difuză de intensitate redusă:

1 – vas spălător; 2 – soluție de KOH; 3 – frită; 4 – clemă Hoffmann; 5 – recipient de sticlă; 6 – sită din material plastic; 7 – frunze; 8 – soluție de $Ba(OH)_2$; 9 – clemă Hoffmann; 10 – trompă metalică de apă.

începe să se decoloreze treptat, de sus în jos, pe măsura solvirii în ea a CO_2 rezultat din respirația frunzelor. În urma carbonatării apei de barită, conform reacției

$$Ba(OH)_2 + CO_2 \rightarrow BaCO_3 + H_2O,$$

se modifică pH-ul soluției, astfel că în momentul neutralizării substanței soluția se decolorează, întrucît fenolftaleina este incoloră în mediu neutru.

Procedeul demonstrează faptul că organele clorofiliene respiră continuu.

În cazul cînd în loc de frunze se folosesc semințe aflate în curs de germinație, decolorarea apei de barită se produce mai repede, deoarece respirația acestor semințe este mult mai intensă decît a frunzelor.

5.1.2. EVIDENȚIEREA DIMINUĂRII MASEI USCATE A PLANTELOR ÎN TIMPUL RESPIRAȚIEI

Oxidarea biologică provoacă scăderea masei uscate a țesuturilor, deoarece în timpul respirației substanțele organice utilizate ca substrat sînt descompuse pînă la CO_2 și apă.

Evidențierea scăderii masei uscate a plantelor în timpul respirației, adică a consumului de substanțe organice în respirație, se poate face prin următoarele experimente:

a. Se pregătesc, în număr egal, două loturi de semințe de la aceeași plantă (cîte 50 de cariopse de porumb sau cîte 300 cariopse de orz, etc.), astfel ca masa loturilor să fie cuprinsă între 10—15 g. Se supune un lot deshidratării, pentru determinarea substanței lui uscate conform procedeului descris în paragraful 1.1.1, iar celălalt lot se pune la germinat, în cutii Petri tapisate cu hîrtie de filtru umedă și plasate la întuneric. După 5 zile de la declanșarea germinației se determină substanța uscată și la acest lot. Se va constata că masa uscată a lotului de semințe care au fost puse la germinat, va fi cu circa 20% mai mică decît masa uscată a lotului care nu a fost supus germinării. Această diferență dintre masa uscată a celor două loturi reprezintă cantitatea de substanțe organice care a fost consumată în respirație, cu formare de CO_2 și apă.

Datele obținute se trec într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 5.1. În acest tabel rezultatul experimentului se exprimă în procente față de martor, care este reprezentat prin lotul de semințe nesupus germinării, utilizînd relația:

$$100-\left(\frac{b \cdot 100}{a}\right),$$

în care:

b = masa substanței uscate a lotului de semințe supus germinării (în grame);

a — masa substanței uscate a lotului de semințe negerminate (în grame);

100 = coeficient pentru exprimarea rezultatului în procente.

b. Se detașează de pe un salcîm, la sfîrșitul unei zile, un număr de frunze corespunzător pentru a putea oferi cel puțin 100 de foliole pare, știut fiind că frunzele de salcîm au între 9—21 de foliole. Se rup, imediat după recoltare, 50 de foliole de pe o singură parte a pețiolurilor principale ale acestor frunze și se pun la deshidratat, pentru determinarea substanței lor uscate, conform procedeului descris în paragraful 1.1.1, iar frunzele cu foliolele rămase de cealaltă parte a pețiolurilor principale se introduc cu aceste pețioluri într-un pahar Berzelius cu apă. A doua zi dimineața se rup, de pe pețiolurile principale ale acestor frunze, celelalte 50 de foliole rămase în poziția opusă celor recoltate anterior și li se determină, de asemenea, masa substanței uscate. Diferența dintre masa substanței uscate a celor două loturi de foliole reprezintă cantitatea de substanțe organice consumată în respirație de foliolele păstrate pe frunze peste noapte, deoarece migrația substanțelor organice din ele nu a avut loc în cursul nopții, întrucît frunzele au fost detașate.

TABELUL 5.1

Evidențierea consumului de substanțe organice în respirație în timpul germinării semințelor

Specia	Masa semințelor uscate (g)		Diferența de masă (%)
	Negerminate (a)	Germinate (b)	

TABELUL 5.2

Evidențierea consumului de substanțe organice în cursul respirației frunzelor

Specia	Masa frunzelor uscate (g)		Diferența de masă (%)
	Seara (a)	Dimineața (b)	

Datele obținute se trec într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 5.2. Pierderea din masă este exprimată în procente față de martor, reprezentat prin lotul de foliole recoltate seara și se calculează cu ajutorul relației:

$$100-\left(\frac{b \cdot 100}{a}\right),$$

în care:

a = masa în stare uscată a foliolelor recoltate seara (în grame);
b = masa în stare uscată a foliolelor recoltate în dimineața următoare (în grame);
100 = coeficient pentru exprimarea rezultatului în procente.

5.1.3. EVIDENȚIEREA DEGAJĂRII DE CĂLDURĂ ÎN TIMPUL RESPIRAȚIEI

Nu toată energia rezultată din catabolism este recuperată de către plante pentru nevoile lor energetice, deoarece o parte din ea se risipește sub formă de energie calorică. Aceasta determină, în unele cazuri, încălzirea țesuturilor cu cîteva zecimi de grad sau chiar cu cîteva grade Celsius față de temperatura mediului ambiant.

Evidențierea producerii de energie calorică în timpul respirației se poate face prin următoarele procedee:

a. Se iau trei eprubete scurte și largi, care se înfășoară în vată și se așază în cîte un pahar Berzelius. În prima dintre ele se introduc semințe, în a doua vată imbibată cu cloroform și peste aceasta semințe, iar în a treia vată imbibată cu apă și peste aceasta semințe, după care se astupă eprubetele cu dopuri prevăzute cu termometre, astfel ca rezervoarele lor cu mercur să fie împlîntate în masa de semințe (fig. 5.8). După un timp, se va putea constata că temperatura se ridică numai în ultima eprubetă, deoarece semințele din interiorul ei germinează și în timpul germinării respiră extrem de intens. În prima eprubetă semințele rămîn în anhidrobioză, neavînd apă, iar în a doua deși se imbibă, ele nu germinează și deci nu respiră intens, fiind anesteziate. Procedeul dovedește că ridicarea temperaturii în eprubeta a treia nu se datorește imbibiției, ci respirației intense a semințelor.

b. În cazul cînd temperatura organelor plantelor este doar cu cîteva zecimi de grad mai mare decît cea a mediului înconjurător, ea poate fi măsurată cu ajutorul cuplurilor termoelectrice.

Un cuplu termoelectric poate fi confecționat ușor prin sudarea unei sîrme de fier la una de cupru, astfel ca ele să fie așezate în forma literei V. După sudare, partea distală a celor două sîrme se apropie prin trecerea acestora printr-o bucată de varniș (tub din material plastic) și se sudează fiecare sîrmă la un conductor, care se leagă la un galvanometru (fig. 5.9 a). Implîntînd acest termocuplu în mijlocul unui tubercul de cartof, se constată o ușoară deviere a acului galvanometrului, ceea ce arată că temperatura acestuia este ceva mai ridicată decît cea a mediului extern (fig. 5.9 b). Această temperatură se poate determina cu ajutorul unui termometru Beckmann (care este gradat în sutimi de grad). În acest

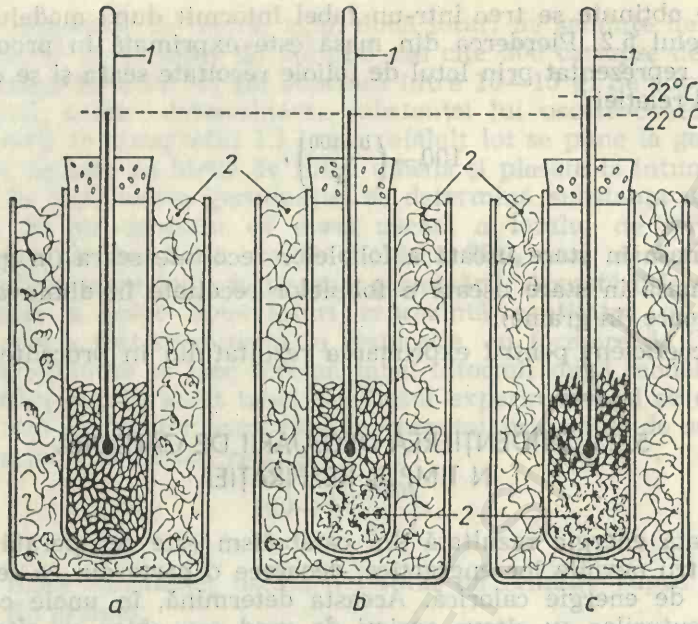


Fig. 5.8. Degajarea de căldură în procesul respirației:
a — semințe de secară în anhidrobioză (martor); b — semințe anesteziate (vata din eprubetă este imbibată cu cloroform); c — semințe germinate (vata din eprubetă este imbibată cu apă); 1 — termometre; 2 — vată.

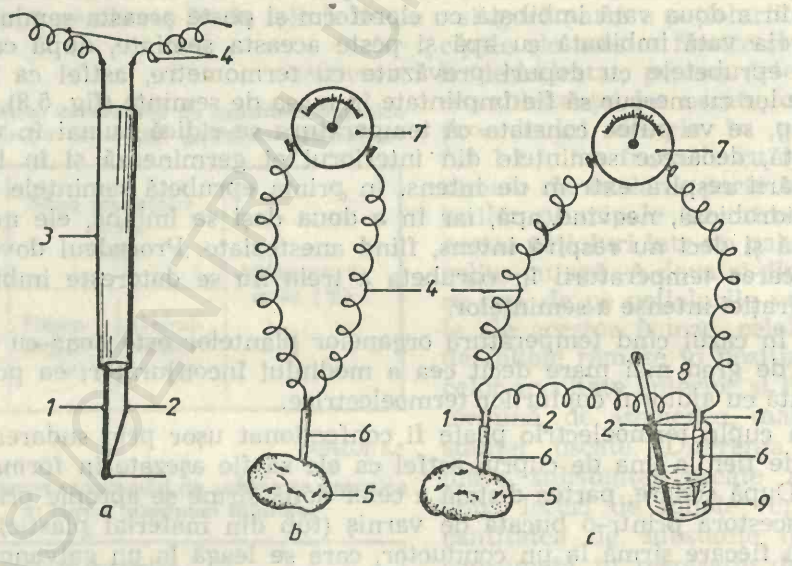


Fig. 5.9. Evidențierea și determinarea temperaturii organelor plantelor:
a — termocuplu; b — evidențierea temperaturii unui tubercul de cartof; c — determinarea temperaturii unui tubercul de cartof; 1 — sîrmă de fier; 2 — sîrmă de cupru; 3 — varniș; 4 — conductori; 5 — tubercul de cartof; 6 — termocuplu; 7 — galvanometru; 8 — termometru Beckmann; 9 — pahar Berzelius cu apă.

scop se folosesc două termocupluri, care se leagă, pe de o parte între ele, prin sîrmele de cupru, iar pe de altă parte de galvanometru, prin sîrmele de fier. Unul dintre aceste termocupluri se introduce în miezul unui tubercul de cartof, iar celălalt într-un pahar cu apă rece, în care s-a introdus în prealabil termometrul Beckmann (fig. 5.9 c). Se va constata că se produce imediat o deviere a acului galvanometrului. După producerea acestei devieri, se toarnă în pahar, cîte puțin, apă caldă, pînă ce acul galvanometrului se întoarce pe poziția zero și în acest moment se citește temperatura pe termometru, temperatură care este egală cu cea din miezul tuberculului.

5.1.4. EVIDENȚIEREA PRODUCERII DE ENERGIE ELECTRICĂ ÎN RESPIRAȚIE

Datorită faptului că reacțiile biochimice se petrec la nivel de ioni, a faptului că membranele biologice sînt selectiv semipermeabile, datorită proceselor de acumulare activă a ionilor sau stabilirii echilibrului Donnan și datorită, în general, activității vitale, în plante apar diferențe de potențial electric, care dau naștere la curenți electrici de intensitate mică, numiți curenți de repaus. Diferențele de potențial electric se reduc mult sau dispar în lipsa luminii și a oxigenului, ceea ce arată că apariția curentului electric este cauzată, în principal, de transformarea unei părți a energiei chimice potențiale a substanțelor organice utilizate ca substrat în respirație, în alte forme de energie. Direcția curentului de repaus este diferită în diverse țesuturi și organe ale plantelor.

Pentru evidențierea și măsurarea biocurenților la plante, se folosește un galvanometru sensibil, capabil să sesizeze variațiile mici de potențial electric. Se fixează la bornele galvanometrului papucii testerilor și se aduce acul galvanometrului la zero mecanic, prin reglarea butonului corespunzător. După efectuarea acestor operații, se înfige un tester în mezocarpul unei jumătăți de măr, iar celălalt puțin sub epicarp, deoarece stratul de ceară de deasupra fructului este izolator. În acest moment, devierea acului galvanometrului arată că la suprafața mărului încărcătura electrică este pozitivă, iar în mezocarp negativă (fig. 5.10). Intensitatea curentului de repaus este mică, fiind în acest caz de circa $7 \cdot 10^{-7}$ A.

După determinare se scot testerii, iar bornele galvanometrului se scurtcircuitează cu o sîrmă, pentru o mai bună protejare.

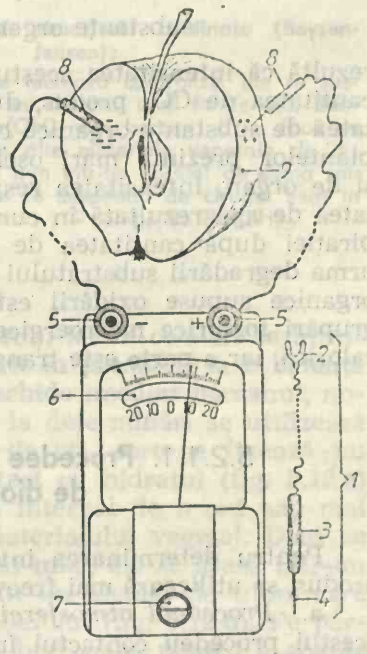


Fig. 5.10. Măsurarea biocurentului electric la un măr:
1 – tester; 2 – papuc; 3 – varniș; 4 – bold; 5 – borne; 6 – oglindă; 7 – buton pentru reglaj „zero mecanic"; 8 – testeri; 9 – măr secționat.

5.2. INTENSITATEA RESPIRAȚIEI

Intensitatea respirației se exprimă prin cantitatea de CO_2 eliminat sau de O_2 absorbit (în mg sau cm^3) de către unitatea de masă a materialului vegetal proaspăt sau uscat (care este gramul), în unitatea de timp (care este ora). Este de preferat raportarea intensității respirației la unitatea de masă a materialului vegetal uscat, deoarece conținutul de apă din corpul plantelor variază mult, atît în cursul zilei cît și sezonier.

Întrucît volumul de CO_2 eliminat nu este întotdeauna egal cu volumul de O_2 absorbit, rezultatele determinărilor bazate pe evaluarea cantității de CO_2 produs sau pe evaluarea cantității de O_2 consumat în respirație, nu sînt obligatoriu identice.

Raportarea cea mai corectă a intensității respirației, care se folosește însă mai rar, se face la azotul proteic existent în țesuturile sau organele utilizate la determinări, adică numai la partea activă a celulelor, fără substanțele inerte (lignină, celuloză, amidon, uleiuri etc.), procesul fiind exprimat în mg sau cm^3 CO_2 sau O_2/g N proteic/h.

5.2.1. PROCEDEE DE DETERMINARE A INTENSITĂȚII RESPIRAȚIEI

Pornind de la ecuația generală a respirației

$$\text{substanțe organice} + O_2 \rightarrow CO_2 + H_2O + \text{energie},$$

rezultă că intensitatea acestui proces fiziologic poate fi determinată după cantitatea de CO_2 produs, după cantitatea de O_2 absorbit și după cantitatea de substanțe organice consumate. Dat fiind faptul că apa din corpul plantelor prezintă mari oscilații diurne și sezoniere, funcție de specie și de organ, intensitatea respirației nu poate fi determinată după cantitatea de apă rezultată în cursul procesului, iar evaluarea intensității respirației după cantitatea de energie rezultată este dificilă, deoarece în urma degradării substratului o parte din energia moleculelor de substanțe organice supuse oxidării este fixată sub formă de energie chimică în grupări fosforice macroergice, o parte se risipește sub formă de energie calorică, iar o parte este transformată în alte forme de energie.

5.2.1.1. Procedee bazate pe determinarea cantității de dioxid de carbon produs

Pentru determinarea intensității respirației după cantitatea de CO_2 produs, se utilizează mai frecvent următoarele procedee:

a. *Procedeul atmosferei confinate* (Boysen-Jensen). În cazul acestui procedeu contactul între materialul vegetal și atmosferă are loc într-un recipient bine închis, în care CO_2 rezultat din respirație este fixat de către o soluție de $Ba(OH)_2$.

Pentru determinare se iau două borcane, cu capacitatea de 300—500 cm^3 și se introduc în ele cîte 20 ml de soluție de $Ba(OH)_2$ 7% din rezervorul cu $Ba(OH)_2$ stabilizat (fig. 5.11) și cîteva picături de soluție de fenolftaleină 1% (reactivul nr. 21), după care se închide imediat unul

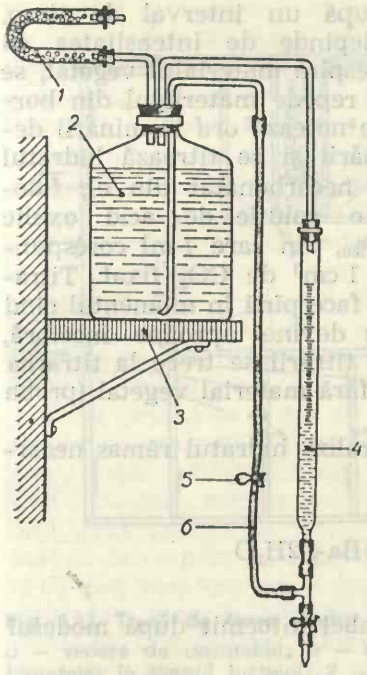


Fig. 5.11. Instalație care permite utilizarea soluției de $Ba(OH)_2$ fără ca aceasta să vină în contact cu CO_2 din atmosferă:

1 – tub cu granule de var sodat, care fixează CO_2 din aer; 2 – recipientul cu soluția de $Ba(OH)_2$; 3 – consolă; 4 – biuretă; 5 – clemă care permite accesul soluției de $Ba(OH)_2$ în biuretă; 6 – tub de cauciuc.

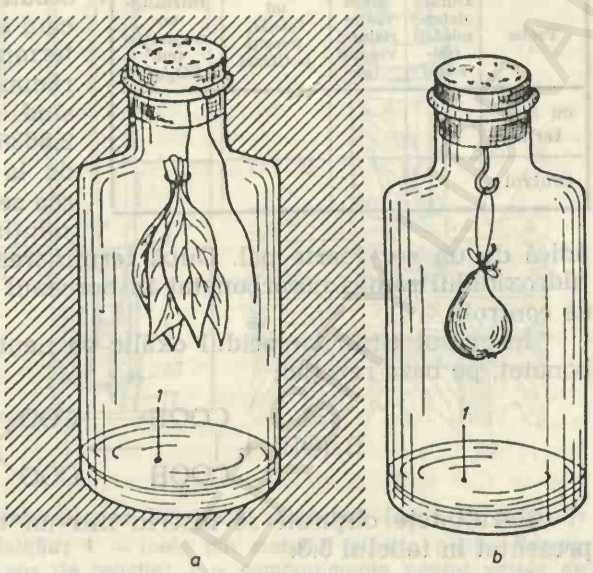


Fig. 5.12. Procedeul atmosferei confinate (Boysen-Jensen):

a – în cazul cînd se lucrează cu frunze, ele se suspendă (la întuneric), cu ajutorul unui fir de ață, deasupra soluției de $Ba(OH)_2$ din borcan; b – dacă se folosesc semințe, sau alte materiale vegetale de dimensiuni mici, ele se pun într-un coșuleț de sîrmă sau săculeț de tifon, care se suspendă de cîrligul fixat în dopul borcanului: 1 – soluție de $Ba(OH)_2$.

dintre borcane (care reprezintă proba de control), iar în celălalt se introduce, foarte repede, materialul vegetal, cîntărit în prealabil la o balanță de torsiune sau la o balanță analitică și se închide imediat borcanul, notînd ora începerii determinării. În cazul cînd la determinări se utilizează frunze, ele se leagă în mănunchi cu un fir de ață, care se fixează cu dopul astfel ca frunzele să nu vină în contact cu hidratul (fig. 5.12 a) și se așază borcanul la întuneric, pentru un interval de o oră sau mai mult, în funcție de intensitatea respirației materialului vegetal. Dacă se folosesc semințe sau alte organe de dimensiuni mici, ele se așază într-un coșuleț confecționat din sită metalică, sau într-un săculeț de tifon, care se suspendă de un cîrlig fixat de dopul borcanului (fig. 5.12 b). Pe parcursul determinării se agită din cînd în cînd borcanele, pentru a sparge crusta de $BaCO_3$ formată la suprafața hidratului în urma fixării CO_2, care are loc după reacția:

$$Ba(OH)_2 + CO_2 \rightarrow BaCO_3 + H_2O$$

Această agitare periodică facilitează contactul permanent între soluția de hidrat și CO_2 degajat de materialul vegetal în timpul respirației.

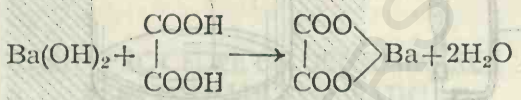
TABELUL 5.3

Determinarea intesității respirației la . . . . .

Proba	Durata determinării (minute)	Masa materialului vegetal (g)	ml $C_2O_4H_2$ folosiți la titrare	Intensitatea respirației (cm^3 CO_2/g/h)
cu material				
control				

După un interval de timp, care depinde de intensitatea cu care respiră materialul vegetal, se scoate repede materialul din borcan, se notează ora terminării determinării și se titrează hidratul rămas necarbonatat din el, folosind o soluție de acid oxalic 2,8636‰, din care 1 ml corespunde la 1 cm^3 de CO_2 fixat. Titrarea se face pînă în momentul cînd soluția devine aproape incoloră, adică de un roz foarte pal. După terminarea titrării se trece la titrarea hidroxidului rămas necarbonatat în borcanul fără material vegetal (proba de control).

În cursul titrărilor acidul oxalic va neutraliza hidratul rămas necarbonatat, pe baza reacției:



Rezultatele obținute se înscriu într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 5.3.

Intensitatea respirației, exprimată în cm^3 CO_2/g/h, se calculează cu ajutorul relației:

$$\frac{(A-B)\cdot 60}{m\cdot t},$$

în care:

A = cantitatea de acid oxalic folosit la titrarea probei de control (în ml);

B = cantitatea de acid oxalic folosit la titrarea probei cu material vegetal (în ml);

60 = coeficient pentru raportarea intensității respirației la unitatea de timp (o oră);

m = masa materialului vegetal proaspăt sau uscat (în g);

t = durata determinării (în minute).

Dacă raportarea intensității respirației se face la substanța uscată, după determinare trebuie să se stabilească valoarea acesteia, conform procedeului prezentat în paragraful 1.1.1.

b. *Procedeul de teren.* Pentru cercetările de teren se poate folosi o trusă de formă paralelipipedică, confecționată din placaj, care poate fi purtată cu ușurință de doi oameni (fig. 5.13 a). În părțile laterale trusa are două compartimente în care se găsesc biuretele automate cu $Ba(OH)_2$ 7‰, respectiv cu acid oxalic 2,8636‰, ce sînt fixate bine în cîte un inel din plastic prevăzut cu două arcuri, care țin încleștat în jurul gîtului biuretelor cîte un guler din aluminiu (ham). Biuretele sînt prevăzute cu cîte o pară de cauciuc și au, atașat de robinet, cîte un tub din material plastic transparent (7), care se termină cu un tub de sticlă scurt, bine efilat. Biureta cu $Ba(OH)_2$ este prevăzută, la capătul superior și la furtunul perei de cauciuc, cu tuburi de sticlă pline cu calce sodată, pentru a împiedica pătrunderea CO_2 din atmosferă în rezervorul ei. În timpul

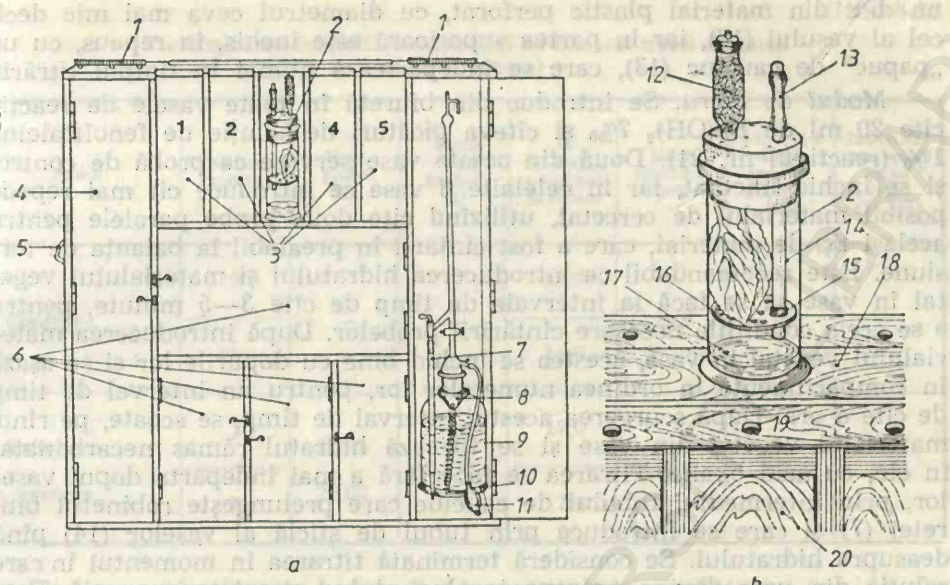


Fig. 5.13. Trusă de teren pentru determinarea intensității respirației (după O. Raianu): a — vedere de ansamblu; b — detaliu; 1 — inele din material plastic, pentru fixarea biuretelor în timpul lucrului; 2 — vas de reacție; 3 — compartimente pentru vasele de reacție (închise); 4 — compartiment pentru biureta automată; 5 — toartă; 6 — debarale pentru diverse anexe, ustensile, materiale pentru teren etc.; 7 — tub din plastic transparent, aflat în prelungirea robinetului biuretei; 8 — ham cu arc pentru fixarea biuretei; 9 — biuretă automată; 10 — inel suport de care este fixat hamul; 11 — pompă de cauciuc; 12 — tub cu granule de var sodat; 13 — papuc; 14 — tub de sticlă prin care pătrunde tubul de plastic din prelungirea robinetului biuretei, în timpul titrării; 15 — inel din cauciuc care menține placa perforată în poziție orizontală; 16 — placă de material plastic perforată, pe care se sprijină materialul vegetal; 17 — soluție de $Ba(OH)_2$, cu fenolftaleină, care fixează CO_2 rezultat din respirație; 18 — capacul debaralei superioare, plasată între cele două rînduri de compartimente pentru vasele de reacție; 19 — orificii de aerisire a compartimentelor în care stau vasele de reacție; 20 — capac glisant, pe verticală, al compartimentului cu vasul de reacție.

lucrului biuretele se așază pe partea superioară a trusei, în cîte un inel din material plastic (1), pentru mărirea stabilității. La partea superioară a trusei se găsesc 10 compartimente (5 de o parte și 5 de cealaltă parte), cu pereții interni vopsiți în negru, care se închid cu capace glisante pe verticală (20), negre și ele pe partea interioară, în care se găsesc vasele de reacție (2). Fiecare compartiment comunică cu exteriorul printr-un orificiu (19), sub care se găsește, la o oarecare distanță, o placă neagră din material plastic, care lasă un spațiu mic între ea și pereții compartimentului. Astfel, fiecare compartiment este în contact cu atmosfera externă, dar lumina nu pătrunde în el. Vasele de reacție (fig. 5.13 b) sînt reprezentate prin borcane pentru preparate anatomice (care au o stabilitate mărită, datorită bazei lor) cu o capacitate de 300 cm^3, care se închid cu dopuri de cauciuc șlefuite astfel încît la presare închid același volum de aer. Dopurile acestor vase sînt străbătute de cîte un tub de sticlă plin cu var sodat (12), închis în repaus cu cîte un plasture (pentru a izola granulele de var sodat de contactul permanent cu CO_2 din aer), care se îndepărtează în momentul lucrului. Dopurile mai sînt străbătute de cîte un tub de sticlă lung (14), la care este atașat, în partea inferioară,

un disc din material plastic perforat, cu diametrul ceva mai mic decît cel al vasului (16), iar în partea superioară este închis, în repaus, cu un „papuc“ de cauciuc (13), care se îndepărtează numai în timpul titrării.

Modul de lucru. Se introduc din biuretă în toate vasele de reacție cîte 20 ml de $Ba(OH)_2$ 7‰ și cîteva picături de soluție de fenolftaleină 1% (reactivul nr. 21). Două din aceste vase servesc ca probă de control și se închid imediat, iar în celelalte 8 vase se introduce cît mai repede posibil materialul de cercetat, utilizînd cîte două probe paralele pentru același tip de material, care a fost cîntărit în prealabil la balanța de torsiune. Este recomandabil ca introducerea hidratului și materialului vegetal în vase să se facă la intervale de timp de cîte 3—5 minute, pentru a se creia condițiile necesare cîntăririi probelor. După introducerea materialului vegetal în vase, acestea se închid bine cu dopurile lor și se așază în compartimente în ordinea numerelor lor, pentru un interval de timp de cîte o oră. După scurgerea acestui interval de timp, se scoate, pe rînd, materialul vegetal din vase și se titrează hidratul rămas necarbonatat în ele, cu acid oxalic. Titrarea se face fără a mai îndepărta dopul vaselor, prin intermediul tubului de cauciuc care prelungește robinetul biuretei (7) și care se introduce prin tubul de sticlă al vaselor (14) pînă deasupra hidratului. Se consideră terminată titrarea în momentul în care soluția din vase devine aproape incoloră, luînd o culoare roz pal. Procedeul utilizat pentru titrare înlătură efectul negativ al unei atmosfere închise, operația efectuîndu-se la un contact redus între hidrat și atmosfera externă.

Datele obținute se trec într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 5.4.

Presupunînd, cu titlu de exemplificare, că:

— la titrarea probei de control (C) s-au consumat, în medie, 18,7 ml de acid oxalic;

— la titrarea uneia dintre probele paralele cu material vegetal (P) s-au consumat, în medie, 17,4 ml acid oxalic;

— masa medie a celor două probe paralele a fost de 2,537 g, calcularea intensității respirației se face după următorul raționament:

2,537 g . . . . 18,7—17,4=1,3 cm^3 CO_2[1)]
1,0 g x

$$x=\frac{18,7-17,4}{2,537}=0,51\ cm^3\ CO_2/g/h$$

a. *Procedeul atmosferei reînnoite* (P e t t e n k o f f e r). În cazul folosirii acestui procedeu, contactul între materialul cercetat și atmosfera din instalație are loc într-un curent de aer lent, ce trece continuu prin recipientul cu materialul vegetal, curent ce este produs cu ajutorul unei trompe de vid (fig. 5.14 a). Aerul care pătrunde în instalație este lipsit de CO_2, ca urmare a faptului că trece în prealabil prin vase spălătoare (10), care conțin o soluție de KOH 10%, dar, trecînd peste materialul vegetal aflat în recipiente închise (care pot avea diferite forme), se încarcă cu CO_2 rezultat din respirația acestuia. Dioxidul de carbon pro-

[1] Un mililitru de acid oxalic 2,8633‰ corespunde unui cm^3 de dioxid de carbon.

TABELUL 5.4

Determinarea intensității respirației cu ajutorul trusei de teren (exemplificare)

Proba	Compartimentul	Masa probei (g)	Media masei probei (g)	ml $(COOH)_2$ consumați la titrare	Media titrărilor (ml)	Diferența dintre control și probă (ml)	Intensitatea respirației (cm^3 CO_2/g/h)
Control	9	—	—	18,8	18,7	—	—
	10			18,6			
Trifolium arvense	1	2,435	2,537	17,0	17,4	1,3	0,51
	2	2,102		17,8			

venit din respirație este antrenat de curentul de aer într-un tub de absorbție (6) care conține o soluție de $Ba(OH)_2$ 7‰ și reține întreaga cantitate de CO_2 produs. Tuburile de absorbție (de obicei în număr de 4), au lungimea de 100 cm, diametrul de 1,5 cm, sînt curbate la un capăt (fig. 5.14 b) și sînt așezate pe un stativ în poziție înclinată, astfel încît capetele lor să se găsească la același nivel. Capetele curbate ale fiecărei

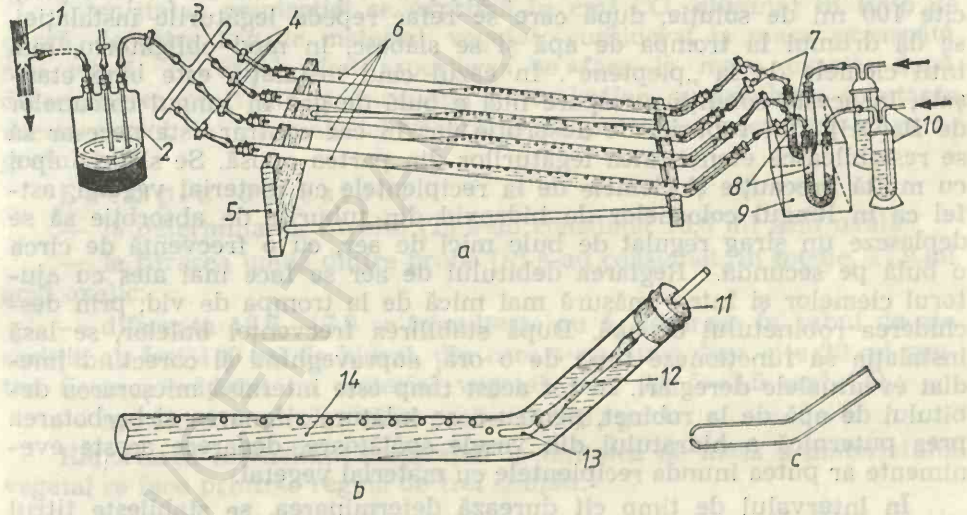


Fig. 5.14. Procedeul Pettenkoffer pentru determinarea intensității respirației:

a — instalația Pettenkoffer; b — detaliul unui tub de absorbție; c — „doza" care fragmentează curentul de aer în bule; 1 — trompă de apă, care provoacă trecerea unui curent de aer continuu prin întregul sistem; 2 — regulator de presiune cu mercur, deasupra căruia se găsește un strat de apă; 3 — „pieptene"; 4 — cleme Hoffmann; 5 — stativ din lemn; 6 — tuburi de absorbție; 7 — tuburi de sticlă în Y pentru distribuirea curentului de aer; 8 — recipiente cu material vegetal; 9 — baie termostat; 10 — vase spălătoare cu soluție de KOH; 11 — dop de cauciuc; 12 — tub de cauciuc; 13 — doză; 14 — soluție de $Ba(OH)_2$

perechi de tuburi de absorbție sînt în legătură, prin tuburi de cauciuc prevăzute obligator cu cleme Hoffmann, cu cîte un recipient cu material vegetal, iar capetele lor opuse sînt atașate, de asemenea, prin tuburi de cauciuc prevăzute cu cleme Hoffmann, de un „pieptene" (3), care este pus în legătură, prin intermediul unui regulator de presiune (2), cu trompa de apă (1). Dopul de cauciuc, care închide capătul curbat al tuburilor de absorbție, este străbătut de un tub mic de sticlă, al cărui capăt din interior este pus în legătură, printr-un tub de cauciuc lung cam cît porțiunea curbată a tuburilor de absorbție, cu o doză (fig. 5.14 b), al cărei capăt liber este prevăzut cu un por cu diametrul de 0,2—0,3 mm (fig. 5.14 c). Recipientele cu material vegetal se scufundă într-o baie termostată (9), a cărei temperatură se menține constantă, la valoarea dorită, pe toată durata determinărilor. Dacă materialul vegetal conține pigmenți clorofilieni, recipientele se învelesc în saci confecționați din pînză neagră.

Modul de lucru. Materialul vegetal, cîntărit în prealabil cu precizie, se introduce în recipientele destinate acestuia, după care se stabilește cu mare grijă ca toate legăturile instalației să fie etanșe. Se scufundă recipientele cu material vegetal în baia termostată, se slăbesc toate clemele și, deschizînd robinetul de la trompa de apă, se trece prin instalație un curent moderat de aer (a cărui viteză se apreciază după intensitatea barbotării hidroxidului din vasele spălătoare), timp de circa 5 minute, pentru a înlocui aerul din instalație cu unul lipsit de CO_2, iar după scurgerea acestui interval de timp se închid robinetul de apă și toate clemele Hoffmann. Din rezervorul cu $Ba(OH)_2$ stabilizat (fig. 5.11), care trebuie să se afle deasupra și în apropierea capetelor neîndoite ale tuburilor de absorbție, se introduce, folosind o pîlnie prevăzută cu un tub de cauciuc, în fiecare tub de absorbție, prin capătul lui drept (neîndoit), cîte 100 ml de soluție, după care se refac repede legăturile instalației, se dă drumul la trompa de apă și se slăbesc, în mod obligatoriu, mai întîi clemele de la „pieptene". În cazul cînd instalația este bine etanșată, în aceste condiții nu apare nici o bulă de gaz în lungul coloanelor de $Ba(OH)_2$ din tuburile de absorbție, iar în caz contrar este necesar să se restabilească etanșeitatea legăturilor din partea opusă. Se slăbesc apoi cu multă precauție și clemele de la recipientele cu material vegetal, astfel ca în lungul coloanelor de hidroxid din tuburile de absorbție să se deplaseze un șirag regulat de bule mici de aer, cu o frecvență de circa o bulă pe secundă. Reglarea debitului de aer se face mai ales cu ajutorul clemelor și într-o măsură mai mică de la trompa de vid, prin deschiderea robinetului de apă. După stabilirea frecvenței bulelor, se lasă instalația să funcționeze timp de o oră, supraveghind și corectînd imediat eventualele dereglări. În tot acest timp este interzisă micșorarea debitului de apă de la robinet, pentru a se înlătura sifonarea și barbotarea prea puternică a hidratului din vasele spălătoare, deoarece aceste evenimente ar putea inunda recipientele cu material vegetal.

În intervalul de timp cît durează determinarea, se stabilește titrul soluției de hidrat de bariu. Pentru aceasta se iau din rezervorul cu hidrat stabilizat, 20 ml de $Ba(OH)_2$ într-un balon Erlenmeyer de 100 ml, se adaugă 3—4 picături de fenolftaleină 1% (reactivul nr. 21) și se titrează cu acid oxalic 2,8636‰ pînă aproape de decolorare, oprind titrarea înainte ca ultima picătură de acid să decoloreze complet soluția din balon.

După o oră de funcționare a instalației se închid clemele de pe racordurile acesteia, obligatoriu în sens invers ca la deschidere, se închide

trompa de apă, după care se scot dopurile, pe rînd, de la fiecare tub de absorbție, se astupă capetele lui cu degetele mari și se balansează de cîteva ori pentru omogenizarea soluției, care se toarnă apoi într-un balon Erlenmeyer de capacitate corespunzătoare și se astupă bine. Dacă soluția este bine izolată de atmosferă, titrarea ei se poate face și după un interval mai lung de timp. De asemenea, pierderea unei părți din soluția din tuburile de absorbție, în timpul turnării ei în balonul Erlenmeyer, nu prezintă importanță, deoarece din cantitatea totală se titrează doar cîte două probe pentru fiecare recipient cu material vegetal. Titrarea acestor probe se face în același mod ca la stabilirea titrului soluției de $Ba(OH)_2$, luînd la fiecare titrare cîte 20 ml de soluție din baloanele Erlenmeyer în care au fost turnate din tuburile de absorbție. În cazul titrării acestor probe se vor consuma volume mai mici de acid oxalic decît la determinarea titrului soluției de hidrat, deoarece în timpul determinării o parte din $Ba(OH)_2$ se transformă în $BaCO_3$, în urma combinării lui cu CO_2 rezultat din respirația materialului vegetal, combinarea avînd loc după reacția:

$$Ba(OH)_2 + CO_2 \longrightarrow BaCO_3 + H_2O$$

Diferența care rezultă între volumul de acid consumat la stabilirea titrului și cel consumat la titrarea probei se înmulțește cu 5, deoarece din cei 100 ml de soluție de $Ba(OH)_2$ din tuburile de absorbție, la titrare s-au folosit numai 20 ml. Rezultatul obținut va reprezenta cantitatea de CO_2 degajat de materialul vegetal, deoarece 1 ml de acid oxalic 2,8636‰ corespunde la 1 cm^3 CO_2.

Intensitatea respirației se exprimă în cm^3 CO_2 eliminat în timp de o oră, de către 1 g de material vegetal, considerat la masa proaspătă sau uscată. În cazul cînd raportarea se face la masa uscată, după determinarea efectuată cu instalația Pettenkoffer, se stabilește substanța uscată a probelor de material vegetal după procedeul prezentat în paragraful 1.1.1.

Exemplu de calcul:

— la determinarea titrului (T) s-au consumat 18,6 ml acid oxalic;

— la titrarea uneia dintre probe (P) s-au consumat, în medie, 17,9 ml acid oxalic;

— diferența 18,6—17,9 se înmulțește cu 5, deoarece în tubul de absorbție au fost 100 ml de hidrat, din care s-au titrat doar cîte 20 ml pentru fiecare recipient cu material vegetal, deci $0{,}7 \cdot 5 = 3{,}5$ cm^3 CO_2;

— masa medie a celor două probe = 4,5732 g.

Raportarea intensității respirației la unitatea de masă a materialului vegetal se face printr-o regulă de trei simplă:

$$\begin{array}{l} 4{,}5732 \text{ g} \ldots\ldots\ldots 3{,}5 \text{ cm}^3 \text{ CO}_2 \\ 1{,}0 \text{ g} \ldots\ldots\ldots x \end{array}$$

$$x = \frac{1{,}0 \cdot 3{,}5}{4{,}5732} = 0{,}76 \text{ cm}^3 \text{ CO}_2/\text{g/h}$$

Datele obținute pe parcursul determinărilor se notează într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 5.5

TABELUL 5.5

Determinarea intensității respirației plantulelor de grîu (exemplificare)

Masa probei (g)	Media masei probelor (g)	Volumul de $(COOH)_2$ consumat la titrare (ml)	Media titrărilor (ml)	Titrul (ml)	(Titru-Probă). 5 (ml)	Intensitatea respirației (cm^3 CO_2/g/h)
4,1201	4,5732	18,0	17,9	17,2	(17,9—17,2)·5=3,5	0,76
4,4531		17,8				

5.2.1.2. Procedee bazate pe determinarea cantității de oxigen consumat

Determinarea intensității respirației după cantitatea de oxigen consumat de materialul vegetal se poate face, în funcție de particularitățile materialului de analizat, prin procedee volumetrice, manometrice și titrimetrice:

a. *Procedeul volumetric.* Se ia un tub de sticlă asemănător cu cele folosite pentru confecționarea „osmometrelor" Dutrôchet și se atașază la extremitatea lui subțire, prin intermediul unui tub de cauciuc, un rezervor de sticlă în formă de pară, în care se introduce o soluție de KOH 30%. După pregătirea instalației și fixarea ei la un stativ, se introduce în porțiunea lărgită a tubului materialul vegetal utilizat la determinare, după ce a fost cîntărit în prealabil cu precizie. În cazul cînd materialul vegetal conține pigmenți asimilatori, se învelește porțiunea largă a tubului cu hîrtie neagră, pentru a împiedica fotosinteza, care ar putea masca respirația materialului vegetal. După introducerea materialului vegetal se închide tubul la extremitatea lui superioară cu un dop străbătut de un tub scurt de sticlă, prelungit la exterior cu un tub de cauciuc, pe care se găsește o clemă Mohr. Înainte de închiderea instalației se suspendă în interiorul ei, de cîrligul fixat pe fața inferioară a dopului, o fiolă în care s-a pus o soluție de KOH 30% și, în aceasta, o bucată de hîrtie de filtru pliată, cu scopul de a mări suprafața de contact dintre hidrat și CO_2 produs în respirație de către materialul vegetal. După fixarea dopului se deschide pentru un moment clema, cu scopul de a uniformiza presiunea din instalație cu cea externă și se stabilește nivelul de start (n), la care meniscul hidratului din rezervorul în formă de pară se găsește la aceeași înălțime cu meniscul hidratului din porțiunea îngustă a tubului cu material vegetal (fig. 5.15). Se înseamnă acest nivel pe tubul de sticlă și se lasă dispozitivul în repaus pentru un interval de timp de o oră. Pe parcursul determinării nivelul hidratului din tubul de sticlă se va urca, datorită faptului că el va absorbi CO_2 degajat în respirația materialului vegetal, conform reacției:

$$CO_2 + 2KOH \longrightarrow K_2CO_3 + H_2O$$

La sfîrșitul determinării se ridică rezervorul în formă de pară pînă ce hidratul ajunge din nou la același nivel (n') atît în pară cît și în tubul

de sticlă și se notează și acest nivel pe tub. Volumul dintre nivelele n și n' reprezintă cantitatea de oxigen consumat în respirație de către materialul vegetal. Cunoscînd diametrul interior al porțiunii subțiri a tubului, se află suprafața secțiunii lui, cu ajutorul formulei cu care se calculează suprafața cercului (πr^2), care se înmulțește cu diferența (în cm) dintre nivelele n și n'. Rezultatul obținut va reprezenta volumul de oxigen consumat (în cm^3). Datele obținute se trec într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 5.6. În cazul aplicării acestui procedeu, se consideră că volumul de oxigen consumat în respirație este egal cu volumul de CO_2 degajat și fixat de către soluția de KOH. Dacă raportarea intensității respirației se face la 1 gram de substanță uscată, cantitatea de substanță uscată a materialului vegetal se determină după procedeul descris în paragraful 1.1.1.

b. *Procedeul manometric* (Warburg). Se pregătește instalația pentru determinare conform procedeului descris în paragraful 10.5.1, iar determinarea se face respectînd succesiunea operațiilor prezentate în paragraful 3.4.1.2.3. punctele *a*—*g*, cu următoarele deosebiri:

— În vasul de reacție, care va fi cuplat la manometrul ce va constitui garnitura vas de reacție-manometru de experiență (E), se introduce materialul vegetal, cîntărit în prealabil cu precizie, în jurul pahărelului central, în care se introduce apoi o cantitate de 0,3 ml soluție de KOH 30% și în care se implîntă un fitil de hîrtie de filtru pliată, cu dimensiunile de 2×2 cm, pentru a mări suprafața de contact dintre hidrat și CO_2 rezultat din respirația materialului vegetal.

— La punctul *a*, în cazul cînd materialul vegetal este reprezentat prin fragmente de organe sau de țesuturi clorofiliene, după atașarea vasului de reacție la manometrul corespunzător, se „îmbracă" vasul de reacție într-un săculeț de pînză neagră, pentru a împiedica pătrunderea luminii în el.

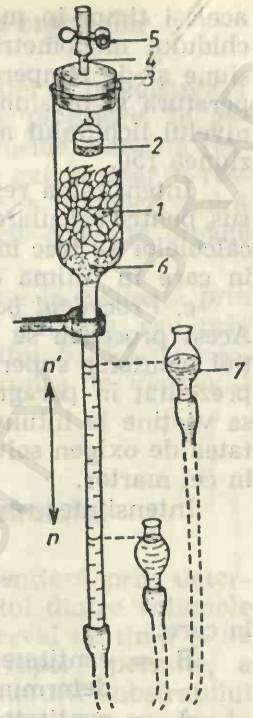


Fig. 5.15. Determinarea volumetrică a intensității respirației:
1 — semințe în curs de germinație; 2 — fiolă cu soluție de KOH; 3 — dop de cauciuc; 4 — tub de sticlă; 5 — clemă Mohr fixată pe tubul de cauciuc; 6 — vată; 7 — rezervor în formă de pară, cu soluție de KOH; n — nivelul de start; n' — nivelul de la sfîrșitul determinării.

— La punctul c, nu se pune în funcțiune sistemul de iluminare a băii termostat. În timpul determinării, întrucît absorbția oxigenului nu este compensată prin eliminarea dioxidului de carbon, care este fixat de hidrat, în garnitura de experiență (E) are loc o scădere a presiunii din vasul de reacție, fapt ce determină urcarea lichidului manometric în brațul închis al manometrului și coborîrea lui în brațul deschis al acestuia. În

TABELUL 5.6

Determinarea intensității respirației la . . . . .

Raza tubului (cm)	Suprafața de secțiune a tubului S (cm^2)	Distanța n—n' (cm)	Masa probei (g)	Intensitatea respirației (cm^3 O_2/g/h)

același timp, în manometrul garniturii termobarometru (Tb) nivelul lichidului manometric se va deplasa după rezultanta variațiilor de presiune și de temperatură din timpul determinării, iar în cazul cînd temperatura și presiunea nu se modifică, sau variațiile lor se compensează, nivelul lichidului manometric va rămîne la marca inițială, adică la diviziunea 150.

Intensitatea respirației se calculează după formula dată la pag. 182, sus, pentru calcularea intensității fotosintezei, iar datele necesare efectuării calculelor se trec într-un tabel asemănător cu cel prezentat în tabelul 3.8, în care în ultima coloană se va înscrie valoarea intensității respirației.

c. *Procedeul bazat pe determinarea cantității de oxigen solvit în apă.* Acest procedeu se poate aplica pentru determinarea intensității respirației plantelor superioare submerse. Determinarea se face după procedeul prezentat în paragraful 3.4.1.2.1., cu deosebirea că recipientul cu planta se va ține la întuneric. În aceste condiții, la sfîrșitul determinării, cantitatea de oxigen solvit în apă va fi mai mică în recipientul cu planta decît în cel martor.

Intensitatea respirației se calculează cu ajutorul formulei:

$$\frac{(B-A)\cdot 60}{m\cdot t},$$

în care:

B = cantitatea de O_2 solvit existent în sticla cu planta la începutul determinării (în mg);

A = cantitatea de O_2 solvit existent în apa din aceeași sticlă la sfîrșitul determinării (în mg);

60 = coeficient pentru raportarea intensității respirației la unitatea de timp (o oră);

m = masa materialului vegetal (în g);

t = durata determinării (în minute).

Toate datele referitoare la elementele necesare calculării rezultatului se trec într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 3.7, în care în ultima coloană se va înscrie valoarea intensității respirației.

5.2.1.3. Procedee bazate pe determinarea cantității de substanțe organice consumate

Aceste procedee se utilizează mai rar, deoarece sînt mai laborioase, necesită o durată mai mare de timp și sacrificarea unor cantități mai mari de material vegetal.

În funcție de particularitățile materialului vegetal de cercetat și de condițiile experimentale, determinările se pot face după unul din procedeele prezentate în paragraful 5.1.2.

5.2.2. VARIAȚIILE INTENSITĂȚII RESPIRAȚIEI

Intensitatea respirației organelor plantelor variază în funcție de natura și vîrsta acestora, precum și în funcție de natura substanțelor utilizate ca substrat în acest proces.

5.2.2.1. Variații în funcție de natura și vîrsta organelor

În cursul ontogeniei intensitatea maximă a respirației se înregistrează în timpul germinației semințelor, după care descrește progresiv. În general, în organele tinere există un consum activ de glucide, datorită respirației „de creștere", în timp ce în organele mature există doar o respirație „de întreținere", care necesită mai puțină energie. Florile respiră mai intens decît frunzele, iar acestea mai intens decît celelalte organe vegetative.

Aceste variații ale intensității respirației pot fi puse în evidență prin procedeul atmosferei confinate, descris în paragraful 5.2.1.1. a, sau prin procedeul atmosferei reînnoite, prezentat în paragraful 5.2.1.1. c, folosind ca material vegetal semințe germinate, flori și frunze de *Phaseolus vulgaris*, sau de altă specie.

5.2.2.2. Variații în funcție de natura substratului

Aceste variații ale intensității respirației se evidențiază prin determinarea cîtului respirator (QR), care reprezintă raportul dintre volumele de CO_2 eliminat și cele de O_2 absorbit, în același interval de timp și de către același material vegetal. Cunoașterea acestui raport permite, a priori, obținerea unor date destul de precise asupra naturii substratului utilizat în respirație și asupra transformărilor metabolice care au loc în celule:

— În cazul cînd substratul utilizat în respirație este format din glucide, QR=1 sau $\simeq 1$.

$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \longrightarrow 6CO_2 + 6H_2O \qquad QR = \frac{6}{6} = 1$$

Situația se întîlnește la organele cu rezervă amilacee, sau la frunzele aflate la întuneric, care își utilizează propriile glucide;

— În cazul cînd substratul respirator este format din lipide, QR= $\simeq$0,7. Lipidele folosite în respirație aparțin, de obicei, gliceridelor, așa cum este cazul la semințele oleaginoase. Astfel, la utilizarea glicerinei QR=0,85

$$2C_3H_8O_3 + 7O_2 \longrightarrow 6CO_2 + 8H_2O \qquad QR = \frac{6}{7} = 0{,}85$$

iar în cazul utilizării acidului stearic, QR=0,69

$$C_{18}H_{36}O_2 + 26O_2 \longrightarrow 18CO_2 + 18H_2O \qquad QR = \frac{18}{26} = 0{,}69;$$

— Proteinele nu sînt utilizate în respirație decît în cazul unei inanități avansate. Dacă sînt totuși utilizate QR= $\simeq$0,8;

— Utilizarea în respirație a acizilor organici, mai ales a celor di și tricarboxilici, duce la un QR supraunitar, datorită conținutului lor mai bogat în oxigen. Astfel, pentru acidul oxalic QR=4

$$2C_2O_4H_2 + O_2 \longrightarrow 4CO_2 + 2H_2O \qquad QR = \frac{4}{1} = 4$$

5.2.2.2.1. Determinarea cîtului respirator la semințele cu rezervă amidonoasă

Se introduc, în două tuburi de forma celor utilizate la confecționarea „osmometrelor" Dutrôchet, cantități egale de semințe germinate de orz sau de grîu, după care unul din tuburi (A) se introduce cu capătul îngust într-un vas cu apă, iar celălalt (B) într-un vas cu o soluție de KOH 30%, fixînd tuburile la un stativ. Se astupă apoi etanș tuburile cu cîte un dop de cauciuc, prevăzut cu un tub de aerisire ce se poate închide cu o clemă. În tubul B, înainte de închidere, se mai introduce și o fiolă cu KOH 30%, care se suspendă de cîrligul dopului și în care se implîntă un fitil de hîrtie de filtru, pentru a mări suprafața de contact dintre hidrat și dioxidul de carbon produs în respirație. După închiderea tuburilor, se deschid, pentru un moment, clemele cu care sînt prevăzute dopurile lor, pentru echilibrarea presiunii din interiorul lor cu cea externă și se lasă tuburile în repaus. Se va constata, în scurt timp, că soluția de KOH începe să urce în tubul B_1 stabilindu-se la înălțimea *h* (fig. 5.16), datorită scăderii presiunii atmosferei interne ca urmare a absorbției oxigenului de către materialul vegetal și a fixării de către hidrat a dioxidului de carbon degajat în respirație, conform reacției:

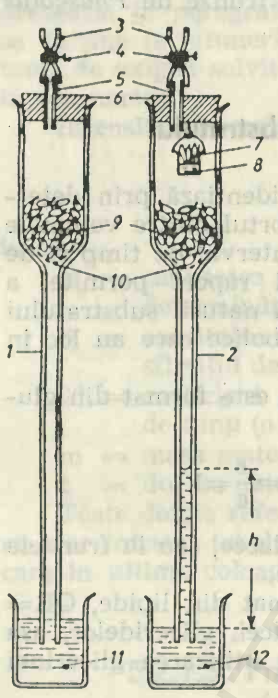


Fig. 5.16. Determinarea cîtului respirator la semințele cu rezervă amidonoasă:
1 – tubul A; 2 – tubul B; 3 – tub de cauciuc; 4 – clemă Hoffmann; 5 – tub de sticlă; 6 – dop de cauciuc; 7 – hîrtie de filtru pliată; 8 – fiolă cu soluție concentrată de KOH; 9 – semințe de orz în curs de germinație; 10 – sită din material plastic; 11 – vas cu apă; 12 – vas cu soluție concentrată de KOH; h – volumul de oxigen absorbit.

$$CO_2 + 2KOH \longrightarrow K_2CO_3 + H_2O$$

Prin urmare, valoarea lui *h* indică volumul de oxigen absorbit de către materialul vegetal. În tubul *A* nivelul apei rămîne neschimbat, ca urmare a faptului că în el presiunea atmosferei interne nu s-a modificat. De aici rezultă că volumul de CO_2 degajat este egal cu cel al O_2 absorbit[1], deci QR=1.

Calcularea valorii cîtului respirator se face cu ajutorul relației: în care:

$$\frac{B-A}{B},$$

în care:

B=modificarea înălțimii coloanei *h* din tubul scufundat cu extremitatea inferioară în hidrat (în cm);

A=modificarea înălțimii coloanei din tubul scufundat cu extremitatea inferioară în apă (în cm).

[1] După legea lui Avogadro, volumele egale de gaze, la temperatură constantă, avînd același număr de molecule, dezvoltă aceeași presiune.

5.2.2.2.2. Determinarea cîtului respirator la semințele cu rezervă oleaginoasă

Pentru determinare se procedează în același mod ca în cazul semințelor cu rezervă amidonoasă (v. paragraful 5.2.2.2.1), cu deosebirea că în cele două tuburi se introduc cantități egale de semințe de cînepă germinate. Se va constata că în tubul B soluția de KOH se ridică pînă la înălțimea h', iar în tubul A apa se ridică la nivelul h'' (fig. 5.17). Diferența $h'—h''$ reprezintă volumul oxigenului consumat în plus față de cazul cînd în respirație sînt utilizate glucidele, pentru oxidarea unui substrat lipidic, care este mai sărac în oxigen. Urcarea apei în tubul A arată că materialul vegetal a absorbit mai mult oxigen decît volumul de dioxid de carbon degajat și, ca urmare, cîtul respirator este subunitar.

Calcularea valorii cîtului respirator se face cu ajutorul relației prezentate în paragraful precedent.

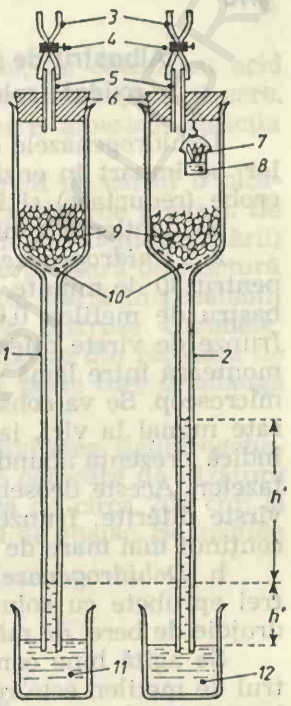


Fig. 5.17. Determinarea cîtului respirator la semințele cu rezervă oleaginoasă:
1 — tubul A; 2 — tubul B; 3 — tub de cauciuc; 4 — clemă Hoffmann; 5 — tub de sticlă; 6 — dop de cauciuc; 7 — hîrtie de filtru pliată; 8 — fiolă cu soluție concentrată de KOH; 9 — semințe de cînepă în curs de germinație; 10 — sită din material plastic; 11 — vas cu apă; 12 — vas cu soluție concentrată de KOH; h' — volumul de oxigen necesar la oxidarea zaharurilor; h'' — volumul de oxigen necesar la oxidarea hidrogenilor suplimentari din moleculele lipidelor.

5.3. ENZIME DE RESPIRAȚIE

Enzimele de respirație fac parte din clasa oxidoreductaze și catalizează reacțiile de oxidare și reducere care au loc în celule. Majoritatea oxidărilor biologice se realizează prin dehidrogenare, transportul hidrogenilor de la substratul AH_2 (care se oxidează) la acceptorul B (care se reduce) făcîndu-se prin activitatea dehidrogenazelor:

$$AH_2 + B \rightleftarrows A + BH_2$$

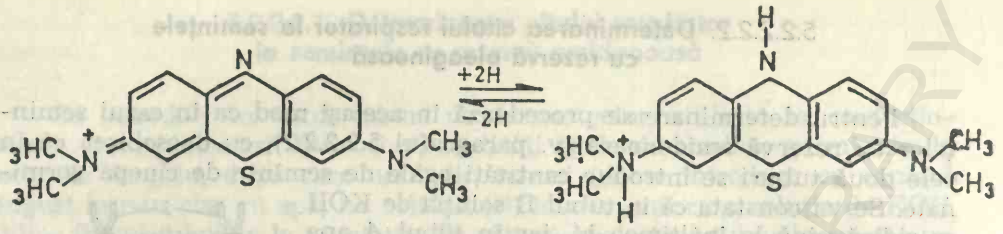
În funcție de natura acceptorului de hidrogen, dehidrogenazele pot fi:

— aerobe, care transportă hidrogenul de la substratul ce se oxidează direct la oxigen;

— anaerobe, care transportă hidrogenul la alți acceptori, dar nu la oxigen.

5.3.1. EVIDENȚIEREA DEHIDROGENAZELOR ANAEROBE (REDUCTAZE)

Aceste enzime se pot pune în evidență în prezența albastrului de metilen (Am), care este un acceptor de hidrogen și care în stare redusă (leucoderivat) este incolor. Decolorarea albastrului de metilen indică prezența dehidrogenazelor anaerobe (Danr).



Albastru de metilen oxidat (colorat)

Albastru de metilen redus (incolor)

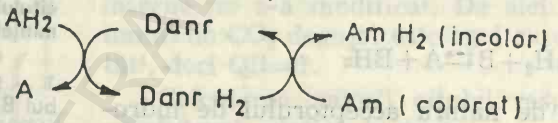
Dehidrogenazele sînt enzime bicomponente și, după natura coenzimelor, se împart în enzime niacinamidnucleotidice[1], care sînt exclusiv anaerobe (reductaze) și în enzime flavinice (oxidaze), care sînt aerobe.

Evidențierea dehidrogenazelor se poate face în următoarele moduri:

a. *Dehidrogenazele anaerobe din frunzele de Elodea.* Se introduce, pentru 30 de minute, o ramură de *Elodea canadensis* într-o soluție de albastru de metilen 0,05%, după care se spală și se iau de pe ea cîteva frunze de vîrste diferite (de la baza, mijlocul și vîrful ramurii), care se montează între lamă și lamelă într-o picătură de apă și se examinează la microscop. Se va constata că unele frunze sînt necolorate, altele sînt colorate numai la vîrf, iar unele sînt colorate în întregime. Aceste deosebiri indică prezența abundentă, mai puțin abundentă și, respectiv, lipsa reductazelor. Aceste deosebiri se datoresc activității metabolice a frunzelor de vîrste diferite: frunzele tinere, cu activitate metabolică intensă, au un conținut mai mare de enzimă.

b. *Dehidrogenazele anaerobe din drojdia de bere.* Se introduce, în trei eprubete cu soluție de albastru de metilen 1%, cîte o granulă de drojdie de bere, de mărimea unui bob de mazăre.

Se agită bine conținutul primei eprubete și se va constata că albastrul de metilen este redus total și trece, într-un interval de timp scurt, în leucoderivatul incolor, în urma reacției:



Eprubeta a doua se așază într-un stativ, fără a o agita. Se va constata că soluția se decolorează doar la baza eprubetei și rămîne colorată în partea ei superioară, deoarece albastrul de metilen se oxidează neenzimatic, spontan, cu oxigenul atmosferic.

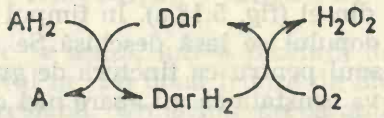
Conținutul celei de a treia eprubete se izolează de aer, turnînd deasupra lui un strat de ulei. Lăsînd eprubeta în stativ, se va constata că albastrul de metilen se decolorează total, însă într-un timp mai îndelungat.

5.3.2. EVIDENȚIEREA DEHIDROGENAZELOR AEROBE (OXIDAZE)

Prin transferul protonilor de hidrogen (și al electronilor acestora) la oxigenul molecular, enzimele flavinice acționează ca dehidrogenaze ae-

[1] Acidul nicotinic poartă, în prezent, numele de niacină.

robe (Dar) și reacțiile catalizate de ele sînt însoțite de formarea apei oxigenate:



Prezența dehidrogenazelor aerobe se evidențiază, de obicei, cu acid α-guaiaconic, care se găsește în rășina de guaiac (resina guajaci) și care, prin hidrogenare, trece în forma oxidată, de culoare albastră. Reacția nu are loc în lipsa oxigenului atmosferic.

a. Se adaugă peste o felie tăiată dintr-un tubercul de cartof o picătură de tinctură de guaiac (soluția alcoolică 1% de rășină de guaiac). Se va constata că apare o colorație albastră, datorită oxidării (dehidrogenării) acidului guaiaconic de către oxidaze. Dacă se pune o picătură de tinctură de guaiac pe o felie de tubercul de cartof, care a fost fiartă în prealabil, colorația nu apare, deoarece prin fierbere au fost distruse enzimele.

Aceleași rezultate se pot obține și cu extracte apoase din răzătură de fructe (mere, pere, prune) sau de tuberculi de cartof, peste care se adaugă cîteva picături de tinctură de guaiac.

b. Necesitatea prezenței oxigenului pentru activitatea dehidrogenazelor aerobe se poate dovedi introducînd o cantitate oarecare de răzătură de tuberculi de cartof într-un borcan cu capacitatea de circa 200 cm^3 și așezînd peste ea un mic creuzet, care conține tinctură de guaiac. Se închide

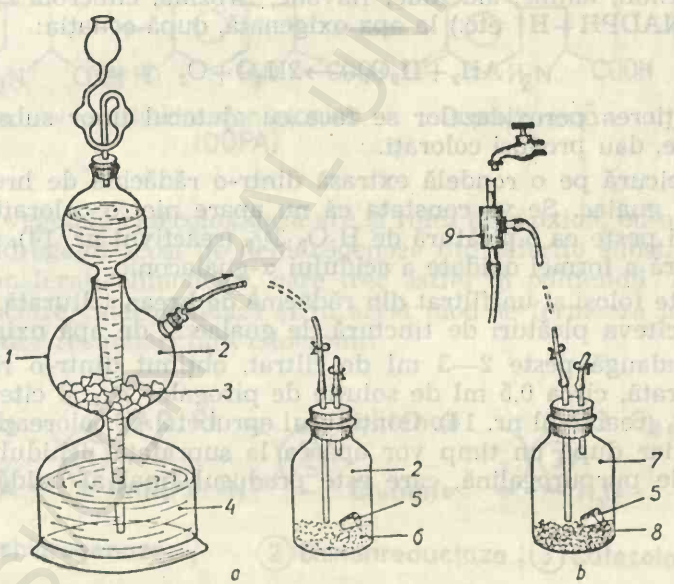


Fig. 5.18. Dovedirea necesității oxigenului atmosferic pentru activitatea oxidazelor:

a — reacția în lipsa aerului atmosferic; b — în prezența aerului atmosferic; 1 — aparat Kipp; 2 — CO_2; 3 — $CaCO_3$; 4 — HCl; 5 — creuzet cu tinctură de guaiac; 6 — răzătură de cartof necolorată; 7 — aer atmosferic; 8 — răzătură de cartof colorată; 9 — trompă de apă.

borcanul etanș, cu un dop prevăzut cu două tuburi de sticlă prevăzute cu tuburi de cauciuc, pe care se fixează cîte o clemă și se introduce în el, printr-unul din tuburi, un curent de CO_2, furnizat de un aparat Kipp, pentru a înlocui aerul din el (fig. 5.18 a). În timpul acestei operații, clema de pe celălalt tub al dopului se lasă deschisă. Se închid apoi cele două cleme și se agită borcanul pentru ca tinctura de guaiac să se verse peste materialul vegetal. Se va constata că nu apare nici o colorație, deoarece în borcan lipsește oxigenul. Dacă se înlocuiește, prin racordarea borcanului la o trompă de apă, dioxidul de carbon din borcan cu aer (fig. 5.18 b), va apare imediat culoarea albastră caracteristică, a formei oxidate a acidului α-guaiaconic.

5.3.3. EVIDENȚIEREA OXIDAZELOR „DIRECTE"

Aceste enzime sînt oxidoreductaze transportoare de electroni, care catalizează reacții de tipul:

$$O_2 + 4e^- \longrightarrow 2O^{2-} \overset{+4H^+}{\rightleftharpoons} 2H_2O$$

5.3.3.1. Evidențierea peroxidazei

Peroxidaza catalizează transferul atomilor de hidrogen de la diferiți donatori (fenoli, amine, aldehide, flavone, tirozină, citocrom c, acid uric, rezorcină, $NADPH + H^+$ etc.) la apa oxigenată, după ecuația:

$$AH_2 + H_2O_2 \longrightarrow 2H_2O + O_2$$

Evidențierea peroxidazelor se face cu ajutorul unor substanțe care, prin oxidare, dau produși colorați.

a. Se picură pe o rondelă extrasă dintr-o rădăcină de hrean, puțină tinctură de guaiac. Se va constata că nu apare nici o colorație. Dacă se adaugă apoi peste ea o picătură de H_2O_2 3% (reactivul nr. 14), apare colorația albastră a formei oxidate a acidului α-guaiaconic.

Se poate folosi și un filtrat din rădăcină de hrean triturată, peste care se adaugă cîteva picături de tinctură de guaiac și de apă oxigenată.

b. Se adaugă peste 2—3 ml de filtrat, obținut dintr-o rădăcină de hrean triturată, circa 0,5 ml de soluție de pirogalol 2% și cîteva picături de H_2O_2 3% (reactivul nr. 14). Conținutul eprubetei se colorează în galben portocaliu, iar după un timp vor apărea la suprafața lichidului picături portocalii de purpurogalină, care este produsul final al oxidării pirogalolului.

5.3.3.2. Evidențierea catalazei

Catalaza descompune apa oxigenată rezultată în celulele vii sub acțiunea enzimelor flavinice, care transferă hidrogenul direct oxigenului molecular. Rolul ei este foarte important, deoarece apa oxigenată este un oxidant puternic și deci dăunător structurilor vii. În reacțiile catalizate

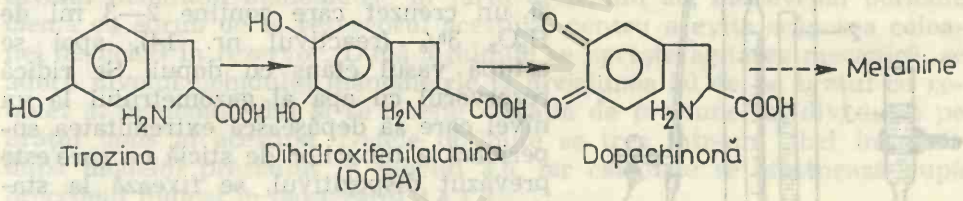
de această enzimă participă două molecule de apă oxigenată, dintre care una este donator de hidrogen, iar cealaltă acceptor:

$$H_2O_2 + H_2O_2 \longrightarrow 2H_2O + O_2$$

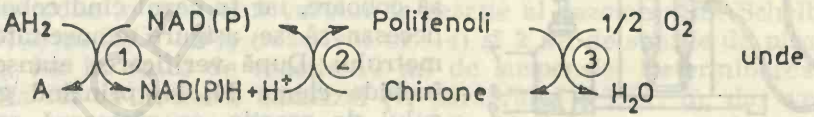
Pentru evidențiere se așază, într-o picătură de H_2O_2 3% pe o lamă de microscopie (reactivul nr. 14) două frunze de *Elodea canadensis*, dintre care una fiartă în prealabil. Urmărind preparatul la microscop, cu un obiectiv mic, se va observa o degajare energică de gaz din frunza vie. Acest gaz este oxigenul ce se degajă din apa oxigenată pătrunsă în frunză și care a fost descompusă de enzimă.

5.3.3.3. Evidențierea catecoloxidazei

Cunoscută mai ales sub denumirea de tirozinază, catecoloxidaza este o monofenoloxidază ce conține cupru și catalizează oxidarea aerobă a o-difenolilor, trifenolilor, a substanțelor tanante și în special a tirozinei. Sub acțiunea catecoloxidazei are loc convertirea tirozinei în dihidroxifenilalanină (DOPA), care, la rîndul ei, este oxidată cu formare de dopachinonă. În continuare reacțiile decurg spontan, în absența enzimelor, ajungîndu-se la melanine (pigmenți bruni):



În celulele vegetale catecoloxidaza are și rolul de a oxida, cu ajutorul oxigenului, hidrogenii scoși de dehidrogenaze din diferite substanțe și care au fost transferați chinonelor, care trec astfel în polifenoli. Aceștia sînt oxidați de către catecoloxidază și în acest mod se formează în plante un lanț respirator secundar, fără citocromi:



① Dehidrogenaze , ② Chinonreductaza ; ③ Catecoloxidaza

Dacă se secționează un tubercul de cartof sau un măr și se lasă la aer, suprafața de secțiune se brunifică după un timp. Dacă se adaugă pe suprafața de secțiune puțină soluție de tirozină, colorația apare mai repede și mai intens, deoarece se formează melanine în urma activității catecoloxidazei.

5.3.4. DETERMINAREA ACTIVITĂȚII UNOR ENZIME CARE PARTICIPĂ ÎN ETAPELE TERMINALE ALE OXIDĂRII BIOLOGICE

Etapele terminale ale oxidării biologice condiționează transferul protonilor de hidrogen și al electronilor lor, prin lanțurile respiratorii laterale, la oxigenul molecular. În cursul acestui transfer, o parte din energia eliberată este recuperată în legăturile macroergice ale ATP. Dintre enzimele care participă la realizarea etapelor terminale ale catabolismului fac parte, printre altele, catalaza și peroxidaza.

5.3.4.1. Determinarea activității catalazei

Determinarea activității acestei enzime se poate face prin următoarele procedee:

a. *Procedeul gazometric.* Se cîntăresc cu precizie 0,2—0,3 g din materialul vegetal, se mojarează timp de trei minute în soluție tampon Sörrensen cu pH=7 (reactivul nr. 41), astfel ca fiecare mililitru din suspensia finală să conțină cîte 0,02 g de material. De pildă, pentru 0,266 g material se folosesc 0,266 : 0,02=13,3 ml de soluție tampon. Se introduc în vasul de reacție al unui gazometru Scheibler (fig. 5.19) 10 ml de suspensie (care conține 0,2 g de material vegetal) și un creuzet care conține 2—3 ml de H_2O_2 3% (reactivul nr. 14), apoi se astupă vasul etanș cu dopul. Se ridică rezervorul cu apă al gazometrului la un nivel care să depășească extremitatea superioară a tuburilor de sticlă cu care este prevăzut dispozitivul, se fixează la stativ, se deschide clema M_2 și, slăbind cu atenție clema M_1, se aduc meniscurile apei din cele două tuburi de sticlă în dreptul diviziunii zero de pe tubul gradat, după care se închide clema. Se verifică apoi etanșeitatea gazometrului, coborînd rezervorul cu apă. Dacă sistemul este etanș, meniscurile apei nu trebuie să coboare, iar în cazul cînd coboară, este necesar să se asigure etanșeitatea gazometrului. După verificarea etanșeității se închide clema M_2 și, prinzînd gîtul vasului de reacție, se răstoarnă conținutul creuzetului peste suspensie și se agită vasul timp de 3 minute. În timpul agitării vasul de reacție trebuie ținut doar de gît, deoarece dacă se apucă în mînă se încălzește și gazul din el se dilată. În timpul agitării, o altă persoană trebuie să coboare ușor rezervorul cu apă, cu o mînă, iar cu cealaltă să manevreze cle-

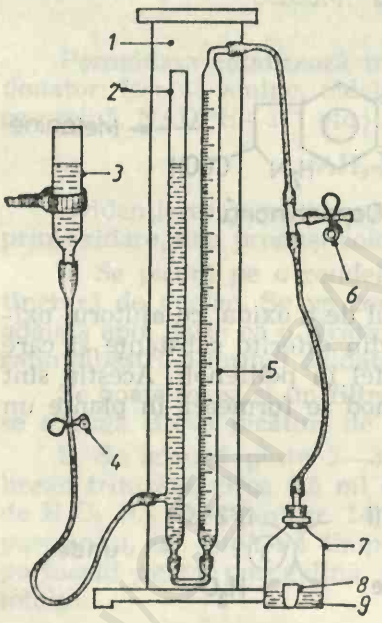


Fig. 5.19. Gazometru tip Scheibler: 1 — stativ din lemn sau material plastic; 2 — tub de sticlă negradat; 3 — rezervor cu apă; 4 — clemă Mohr (M_1); 5 — tub de sticlă gradat; 6 clemă Mohr (M_2); 7 — vas de reacție; 8 — creuzet cu apă oxigenată; 9 — suspensia de material vegetal.

ma M_1, astfel ca să mențină tot timpul meniscul apei din tubul negradat la un nivel cu puțin deasupra celui din tubul gradat. După trecerea celor 3 minute, se aduc la același nivel meniscurile apei din cele două tuburi și se citește pe tubul gradat volumul oxigenului degajat, care a dezlocuit apa. Rezultatul se exprimă în cm^3 O_2/100 mg material vegetal/3 minute.

b. *Procedeul manometric* (Warburg). Se pregătește, după procedeul descris la punctul *a*, un mojarat cu soluție tampon Sörrensen cu pH=7, astfel ca fiecare mililitru de suspensie să conțină cîte 0,01 g de material vegetal. În vasul de reacție, în jurul pălărelului central, se introduc 1 ml de suspensie și 3 ml de apă distilată, iar în diverticulul lui lateral 0,75 ml de H_2O_2 0,1% (reactivul nr. 14). Se atașează vasul de reacție la manometrul corespunzător, avînd grijă ca robinetul lui să fie deschis și se fixează garnitura vas de reacție-manometru la cadrul metalic de agitare mecanică al instalației, pentru echilibrare termică, pe o durată de 10 minute. După echilibrarea termică, se aduce nivelul lichidului manometric de pe ramura cu robinet a acestuia la diviziunea 20, se închide robinetul manometrului, se scoate garnitura de pe cadrul metalic și se înclină cu atenție, pentru ca H_2O_2 din diverticolul lateral să se verse peste suspensie. În acest moment se notează ora începerii determinării și se fixează repede garnitura la cadrul metalic al instalației, declanșînd imediat agitarea mecanică. În timpul determinării, lichidul manometric coboară în brațul închis al manometrului, ca urmare a degajării oxigenului în sistemul închis și urcă în celălalt braț al acestuia. Trebuie avut grijă ca pe parcursul determinării să se mențină în brațul închis al manometrului, nivelul lichidului manometric în jurul diviziunii 20, manevrînd periodic clema cu șurub de la rezervorul acestuia, pentru a evita scăparea coloanei de lichid în rezervor. După 3 minute se oprește agitarea mecanică, se aduce nivelul lichidului manometric la diviziunea 20 de pe brațul cu robinet al manometrului și se citește variația de presiune (în diviziuni) pe brațul opus al acestuia. Datele obținute se trec într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 3.8, iar calculele se efectuează după procedeul indicat în paragraful 3.4.1.2.3.

5.3.4.2. Determinarea activității peroxidazei

Activitatea acestei enzime se poate determina printr-unul din următoarele procedee:

a. *Procedeul gazometric.* Se pregătește o suspensie de material vegetal, după procedeul prezentat în paragraful 5.3.4.1. *a*, cu deosebirea că mojararea se face cu o soluție tampon Sörrensen cu pH=6,2 (reactivul nr. 41). Se introduc în creuzetul vasului de reacție al gazometrului Scheibler (fig. 5.19) 2 ml H_2O_2 1,5% (reactivul nr. 14) și 2 ml de soluție de pirogalol 2,5%, iar în vasul de reacție 10 ml de suspensie. Determinarea se execută la fel ca în cazul catalazei (v. paragraful 5.3.4.1. *a*), dar vasul de reacție se agită timp de 15 minute. Rezultatul se exprimă în cm^3 O_2/100 mg material vegetal/15 minute.

b. *Procedeul manometric* (Warburg). Se aplică același mod de lucru ca în cazul determinării activității catalazei (v. paragraful 5.3.4.1 *b*), cu deosebirea că în diverticulul lateral al vasului de reacție se introduc 0,75 ml H_2O_2 0,2% (reactivul nr. 14) și 0,75 ml soluție de pirogalol 2,5%, iar determinarea durează 15 minute. Rezultatele obținute se trec într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 3.8, iar activitatea enzimei se exprimă în cm^3 O_2/100 mg material vegetal/15 minute.

6

FERMENTAȚIILE

Fermentațiile sînt realizate de anumite grupe de microorganisme și reprezintă un ansamblu de procese prin care are loc degradarea unor substanțe organice, cu producere de energie care este necesară pentru desfășurarea vieții lor. Procesele de fermentație se pot manifesta și la plantele superioare, în cazul cînd se găsesc în condiții de insuficiență sau de lipsă de oxigen.

6.1. FERMENTAȚIILE LA MICROORGANISME

Aceste fermentații constau într-o serie de procese biochimice, cu ajutorul cărora unele microorganisme își procură energia de care au nevoie. Ceea ce caracterizează fermentațiile este disproporția mare care există între cantitatea de substrat transformat și energia rezultată în urma procesului. Drojdia de bere transformă în alcool, în 24 de ore, o cantitate de glucoză de 600—800 ori mai mare decît greutatea sa. Rezultă că pentru nevoile lor energetice, microorganismele trebuie să consume, în general, de circa 30 de ori mai mult substrat în timpul vieții anaerobe decît în timpul vieții aerobe.

6.1.1. FERMENTAȚIA ALCOOLICĂ

Fermentația alcoolică este realizată de levuri, de unele ciuperci din familia *Mucoraceae* și de unele bacterii. În practică se folosesc în special drojdiile, care pot suporta o concentrație a alcoolului de 14—16%, în timp ce celelalte microorganisme, care pot realiza această fermentație, nu pot suporta decît o concentrație de 2—3% alcool. Microorganismele amintite respiră aerob în prezența oxigenului, iar în lipsa lui produc alcool etilic, cu eliberarea unei cantități mici de energie, conform reacției:

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2 \qquad \Delta H = -33 \text{ Kcal/mol}$$

Pentru evidențierea fermentației alcoolice se pot efectua următoarele experimente:

a. Se introduce în două eprubete cu rezervor lateral o soluție de zaharoză 10%, astfel ca să înlocuiască tot aerul din extremitatea lor superioară, după care se introduce în soluția din ele o cantitate mică de drojdie de bere. După un timp se va putea constata că în extremitatea superioară a eprubetelor se acumulează un gaz care dezlocuiește un volum corespunzător de soluție din ele (fig. 6.1). Acest proces poate fi grăbit, introducînd partea inferioară a eprubetelor într-o baie de apă la temperatura de 30—35°C.

Pentru a evidenția faptul că gazul produs este dioxidul de carbon, se introduc în una din eprubete pastile de NaOH, astfel ca după dizolvare să se realizeze o concentrație de circa 30% a substanței. Agitînd ușor eprubeta, în plan vertical, se va constata că gazul acumulat anterior în extremitatea ei superioară este înlocuit de soluție, ca urmare a faptului că CO_2 este absorbit de către hidroxidul aflat în soluție, conform reacției:

$$CO_2 + 2NaOH \longrightarrow Na_2CO_3 + H_2O$$

Prezența alcoolului se evidențiază prin reacția acestuia cu iodul: după ce soluția din cea de a doua eprubetă a fermentat bine, se introduce în ea puțină soluție de NaOH 10%, se încălzește la circa 60°C și apoi se introduc în rezervorul eprubetei cîteva cristale de iod; se formează un precipitat fin, galben, de iodoform, care are un miros caracteristic.

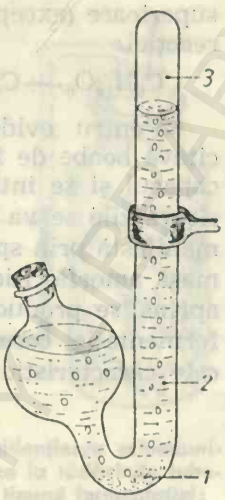


Fig. 6.1. Evidențierea fermentației alcoolice:
1 – drojdie de bere; 2 – soluție de zaharoză; 3 – dioxid de carbon.

b. Se introduce într-un balon Erlenmeyer o soluție de zaharoză 10%, peste care se adaugă puțină drojdie de bere, se introduce balonul într-o baie de apă la temperatura de 30—35°C, după care se astupă cu un dop străbătut de un tub de sticlă îndoit de două ori în unghi drept. Extremitatea liberă a tubului de sticlă se introduce apoi într-o eprubetă care conține o soluție de $Ba(OH)_2$ 1%, colorată în roz cu o cantitate mică de soluție de fenolftaleină 1% (reactivul nr. 21). Dioxidul de carbon produs în cursul fermentației, degajîndu-se sub formă de bule în soluția din eprubetă, în urma acumulării lui în balonul Erlenmeyer, va acidifica soluția din eprubetă, ca urmare a faptului că se va combina cu hidroxidul, conform reacției:

$$Ba(OH)_2 + CO_2 \longrightarrow BaCO_3 + H_2O$$

În urma acestei reacții, prin consumarea hidroxidului soluția se decolorează, deoarece fenolftaleina este incoloră în mediu acid (fig. 6.2).

Evidențierea alcoolului rezultat în urma acestei fermentații se face după procedeul prezentat la punctul *a* al acestui paragraf.

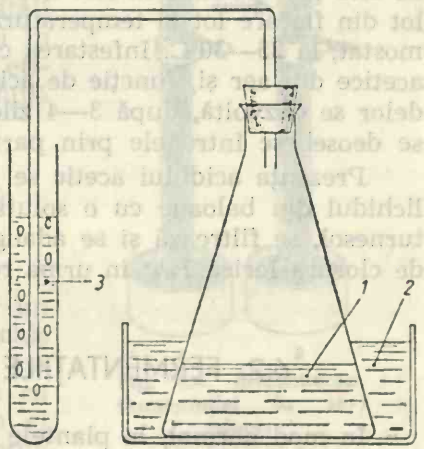


Fig. 6.2. Punerea în evidență a fermentației alcoolice:
1 – soluție de zaharoză, cu drojdie de bere în suspensie; 2 – vas cu apă la 30–35°C; 3 – eprubetă cu soluție de $Ba(OH)_2$ și fenolftaleină.

6.1.2. FERMENTAȚIA BUTIRICĂ

Această fermentație este realizată de bacterii strict anaerobe și facultativ anaerobe, care se dezvoltă bine la temperatura de 35—40°C. Ele se găsesc pe cereale, în pămînt, în lapte, brînzeturi etc. și atacă toate zaharurile simple, precum și polizaharidele

superioare (exceptînd celuloza), transformîndu-le în acid butiric, conform reacției:

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow CH_3—(CH_2)_2—COOH + 2H_2 \qquad \Delta H = —20 Kcal/mol$$

Pentru evidențierea acestei fermentații se pun într-o cutie Petri cîteva boabe de fasole, care se acoperă cu apă. Se acoperă cutia Petri cu capacul și se introduce într-un termostat la temperatura de 40°C. După cîteva zile se va putea constata apariția unei fermentații intense, care se manifestă prin spumegarea apei și transformarea boabelor de fasole într-o masă amorfă. Ridicînd capacul cutiei Petri și apropiind de ea un chibrit aprins, se produce o mică explozie, provocată de hidrogenul rezultat din fermentație, care ia foc. Mirosul neplăcut care se degajă din cutia Petri este caracteristic acidului butiric.

6.1.3. FERMENTAȚIA ACETICĂ

Este un proces aerob, provocat de bacteriile acetice, care se aglomerează la suprafața lichidului de fermentație sub formă de membrane caracteristice. Speciile care au provocat fermentația se pot determina după aspectul membranelor. În fermentația acetică se consumă alcool și rezultă acid acetic și apă, conform reacției:

$$C_2H_5OH + O_2 \longrightarrow CH_3—COOH + H_2O \qquad \Delta H = —117 Kcal/mol$$

Pentru evidențierea acestei fermentații, se introduce în 12 baloane Erlenmeyer cîte un strat de bere de circa 0,5 cm grosime, peste care se adaugă zaharoză astfel ca să realizeze în bere o concentrație de 3—4%. În șase dintre baloane se mai adaugă și acid acetic astfel ca să se realizeze o concentrație de 0,6%. Se împarte apoi fiecare din cele două loturi de cîte șase baloane în cîte două subloturi de trei și se așază cîte un sublot din fiecare lot la temperatură scăzută, în frigider, iar celelalte în termostat, la 25—30°C. Infestarea conținutului baloanelor are loc cu bacterii acetice din aer și, funcție de aciditate și temperatură, pe suprafața lichidelor se dezvoltă, după 3—4 zile, diferite specii de bacterii acetice, care se deosebesc între ele prin particularitățile membranei ce se formează.

Prezența acidului acetic se pune în evidență astfel: se neutralizează lichidul din baloane cu o soluție de NaOH 10%, în prezența hîrtiei de turnesol, se filtrează și se adaugă peste filtrat cîteva picături de soluție de clorură ferică 1%; în urma reacției apare o colorație roșie.

6.2. FERMENTAȚIILE LA PLANTELE SUPERIOARE

În mod normal, la plantele superioare nu se produc procese de fermentație. Totuși, în condiții de aerație insuficientă, organele plantelor pot realiza fermentații. În cele mai multe cazuri poate avea loc o fermentație alcoolică (în cazul fructelor supramaturate — banane, pere, mere, roșii, struguri etc. — care dobîndesc un miros de alcool) și uneori o fermentație lactică (la tuberculii de cartof).

6.2.1. EVIDENȚIEREA SCHIMBURILOR DE GAZE DIN CURSUL FERMENTAȚIEI LA PLANTELE SUPERIOARE

Se introduc rădăcini de morcov sau sfeclă, ori alte organe bogate în glucide (fructe) într-un vas care se închide cu un dop străbătut de două tuburi: un tub manometric în care se pune în prealabil puțină soluție colorată ce servește ca lichid manometric și un tub de sticlă scurt, prelungit la exterior cu un tub de cauciuc prevăzut cu o clemă, care servește la echilibrarea presiunii interne cu cea externă în momentul închiderii borcanului. Se închide clema și, urmărind nivelul lichidului manometric, se va constata în scurt timp că are loc o rarefiere a atmosferei interne, evidențiată printr-o ridicare ușoară a lichidului manometric în ramura dinspre borcan a acestuia. Aceasta se datorește faptului că în timpul respirației materialul vegetal consumă oxigen, iar dioxidul de carbon produs se dizolvă în țesuturi în sucul vacuolar al celulelor. După ce concentrația oxigenului din atmosfera internă scade sub 5%, țesuturile încep să fermenteze și presiunea din vas crește puternic, stabilindu-se după un timp la o valoare cu mult deasupra presiunii atmosferice (fig. 6.3). Aceasta se datorește faptului că țesuturile s-au saturat cu CO_2 și elimină în cursul fermentației cantități mari din acest gaz. În cursul procesului în materialul vegetal se acumulează alcool etilic, a cărui prezență poate fi sesizată după mirosul său caracteristic.

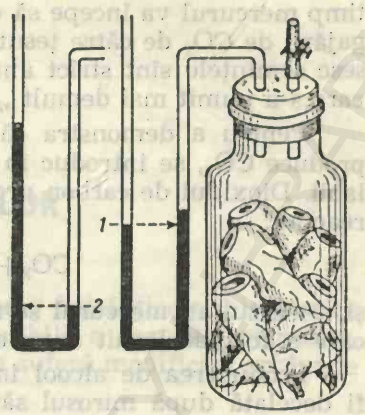


Fig. 6.3. Evidențierea schimburilor de gazge la rădăcinile tuberizate, în timpul fermentației:
1 – după cîteva minute presiunea din vas scade ca urmare a absorbției de oxigen; 2 – după cîteva ore presiunea crește în urma degajării de dioxid de carbon de către rădăcini în procesul de fermentație.

6.2.2. EVIDENȚIEREA FERMENTAȚIEI LA SEMINȚE

Se umple pînă la refuz cu mercur un tub de sticlă, lung de circa 30 cm și închis la un capăt, care, ținîndu-l astupat cu un deget, se răstoarnă cu gura într-o cuvă cu mercur, avînd grijă să nu pătrundă în el nici o bulă de gaz și se fixează la un stativ. Prin capătul scufundat în mercur se introduc în tub cîteva semințe de fasole sau de la altă specie, spălate în prealabil, care prin diferența de densitate se ridică pînă la extremitatea superioară a tubului. După cîtva

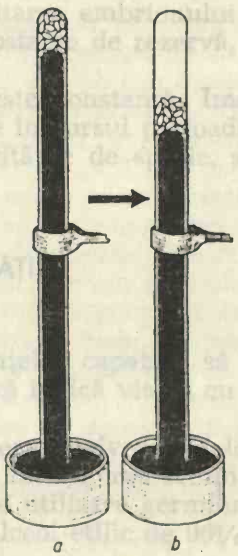


Fig. 6.4. Evidențierea fermentației la semințe:
a – stadiul inițial; b – situația finală (coloana de mercur din eprubetă este împinsă în jos de dioxidul de carbon rezultat în urma fermentației.

timp mercurul va începe să coboare în interiorul tubului, ca urmare a degajării de CO_2 de către țesuturi (fig. 6.4). Întrucît condițiile în care se găsesc semințele sînt strict anaerobe, se produce un proces de fermentație, care s-a numit mai demult „respirație intramoleculară".

Pentru a demonstra că în timpul acestui proces de fermentație se produce CO_2, se introduc în tub cîteva pastile de KOH, umezite în prealabil. Dioxidul de carbon produs va fi fixat sub formă de K_2CO_3, conform reacției:

$$CO_2 + 2KOH \longrightarrow K_2CO_3 + H_2O$$

și, ca rezultat, mercurul se ridică în tub, ocupînd din nou tot spațiul din care a fost dezlocuit anterior.

Producerea de alcool în timpul acestui proces de fermentație poate fi decelată după mirosul său caracteristic, pe care îl imprimă și semințelor.

BCUIAȘI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

7

CREȘTEREA PLANTELOR

Creșterea reprezintă un ansamblu de procese fiziologice și biochimice prin realizarea cărora are loc o mărire ireversibilă a corpului plantelor. În cursul creșterii se formează organe noi, care suferă modificări profunde de mărime, formă și structură.

7.1. GERMINAȚIA SEMINȚELOR

Totalitatea proceselor morfologice, fiziologice și biochimice de trecere a embrionului din sămînță de la starea de viață latentă (de repaus) la starea de viață activă se numește germinație.

Sămînța uscată conține 12—14% apă și se află în stare de repaus. Repausul ei este suprimat numai după ce se produc o serie de modificări interne. Ea nu poate germina decît după ce este coaptă, adică după ce au avut loc o serie de fenomene morfologice (dezvoltarea embrionului și a endospermului) și fiziologice (acumularea unor substanțe de rezervă, deshidratarea).

Capacitatea de germinare a semințelor nu este constantă. Imediat după recoltare este scăzută sau chiar nulă și crește în cursul perioadei de postmaturație, după care, în funcție de particularitățile de specie, scade iar, în funcție de vîrsta lor.

7.1.1. DETERMINAREA FACULTĂȚII ȘI ENERGIEI GERMINATIVE

Facultatea germinativă indică numărul semințelor capabile să germineze dintr-un anumit lot, iar energia germinativă indică viteza cu care se declanșează procesul de germinație.

Pentru determinarea facultății și energiei germinative se folosesc germinatoare de tip Linhard (fig. 7.1), care permit menținerea semințelor într-un spațiu saturat cu vapori de apă. Înainte de utilizare germinatoarele se sterilizează prin căldură sau cu chimicale (alcool etilic de 96% sau cu formalină).

Ca substraturi, pentru germinarea semințelor mici se utilizează hîrtia de filtru, tifonul, vata hidrofilă sau un amestec de pămînt cu nisip de cuarț în proporție de 3 : 1. Semințele unor specii de plante *(Kochia, Vaccaria, Collinsia, Myosotis)* nu pot germina pe hîrtia de filtru și necesită pămîntul ca substrat, deoarece, acesta absoarbe din ele anumite substanțe inhibitoare. Pentru semințele mari se utilizează nisipul fin de cuarț (calcinat, spălat și sterilizat), care se așterne într-un strat cu grosimea de 2—3 cm în germinatoare, se nivelează și se umectează la 60% din

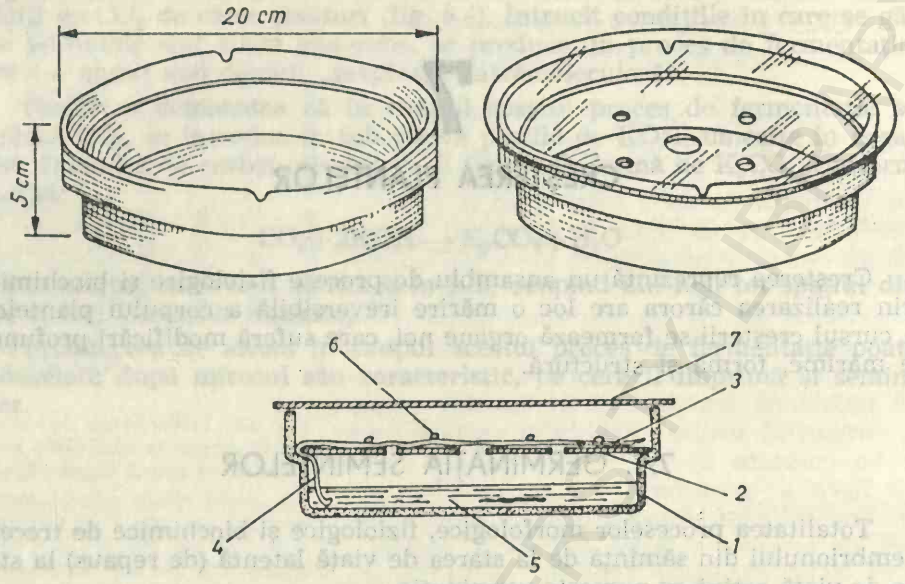


Fig. 7.1. Germinator de tip Linhard (după Cupcea):
1 — vas smălțuit; 2 — suport din sticlă, cu perforații; 3 — hîrtie de filtru; 4 — fitil de hîrtie de filtru; 5 — apă; 6 — semințe; 7 — disc de sticlă.

capacitatea sa maximă pentru apă, care se determină în prealabil prin procedeul prezentat în paragraful 1.3.3.8.4. Pentru umectarea nisipului se utilizează apă de conductă cu temperatura de 20°C (±2—3°C).

Determinarea energiei și facultății germinative se face pe loturi reprezentative. În cazul grîului și porumbului, lotul reprezentativ, în greutate de 1 kg, se obține dintr-o cantitate de 20 tone de semințe, prin recoltarea unor probe din diferite locuri și de la diferite adîncimi ale grămezii, pentru ca să reprezinte cît mai fidel întreaga cantitate.

Pentru determinarea capacității germinative, la semințele mici (grîu, orz, secară) sînt suficiente 400 de cariopse, care se repartizează în 4 germinatoare, punînd cîte 100 de cariopse în fiecare. În cazul experimentării cu semințe mari (porumb, mazăre, fasole) sînt suficiente 200 de semințe, care se repartizează tot în 4 germinatoare, punînd cîte 50 în fiecare.

Semințele se așază cu pensa pe suprafața substratului de germinare în rînduri drepte și echidistante (0,5—1,5 cm). În cazul utilizării nisipului ca substrat, ele se afundă în nisip la o adîncime egală cu grosimea lor. După așezarea semințelor, germinatoarele se acoperă cu capacele, se etichetează și se pun în termostate, sau în dulapuri de sticlă special amenajate. Pe parcursul determinării se controlează zilnic umiditatea și temperatura spațiilor în care se află germinatoarele, reglînd la nevoie valoarea lor. De asemenea, se completează nivelul apei din germinatoare.

Temperaturile de germinare sînt cuprinse, în general, între 15—20°C. Pentru semințele care germinează repede se recomandă ținerea lor la temperatura constantă de 20°C, iar pentru cele care germinează mai greu, sînt favorabile temperaturile alternante, zilnic timp de 6 ore la 30°C și 18 ore la 20°C.

În ceea ce privește condițiile de iluminare, majoritatea semințelor germinează bine la lumina moderată a zilei. Semințele care nu germinează

decît la lumină vor fi ținute în termostate special amenajate, cu tuburi fluorescente în interior, iar cele care au nevoie de întuneric vor fi așezate în termostate obișnuite, cu pereții opaci.

În cazul semințelor acoperite cu palee (orz, ovăz) se consideră germinate cele la care a apărut radicula normală, iar la cele fără palee (grîu, secară, porumb) semințele care prezintă atît radicula cît și tulpinița normale. Se apreciază drept radiculă normală cea care are lungimea egală cu lungimea seminței la semințele alungite, sau cu diametrul seminței la semințele sferice. Tulpinița normală trebuie să aibă o lungime egală cu jumătate din lungimea seminței în cazul semințelor alungite, sau cu jumătate din diametrul ei în cazul semințelor sferice.

TABELUL 7.1

Date pentru stabilirea energiei germinative și a facultății germinative a semințelor unor specii de plante de cultură

Specia	Temperatura de germinație °C	Numărul de zile pentru stabilirea	
		Energiei germinative	Facultății germinative
Triticum sp. (grîu)	20	3	10
Avena sativa (ovăz)	20	4	10
Secale cereale (secară)	20	3	10
Hordeum sp. (orz)	20	3	7
Zea mays (porumb)	20	4	14
Helianthus annus (floarea soarelui)	20	4	10
Phaseolus vulgaris (fasole)	20	4	8
Pisum sativum (mazăre)	20	3	7
Vicia faba (bob)	20	4	10
Solanum lycopersicum (tomate)	20—30	6	14
Cucumis sativus (castravete)	20—30	5	14
Cucumis melo (pepene galben)	20—30	3	8
Cucurbita pepo (dovleac)	20	4	8
Lactuca sativa (salata)	15—20	4	10
Linum usitatissimum (inul)	20—25	3	10

TABELUL 7.2

Date referitoare la germinația semințelor de . . . . .

Repetiția	Energia germinativă (numărarea 1)	Facultatea germinativă (numărarea 2)
1		
2		
3		
4		
Total		
Media		

Valorile energiei și facultății germinative se exprimă prin procentul de semințe germinate în anumite intervale de timp. Pentru facultatea germinativă timpul este stabilit astfel încît după expirarea lui, în general, nu survin noi germinări. Pentru aprecierea energiei germinative, numărătoarea se face după un interval de timp de 1/3—1/2 din durata stabilită pentru determinarea facultății germinative. Aceste termene variază în dependență de specie și de temperatură (tabelul 7.1).

La prima numărare, care se face la termenul indicat pentru determinarea energiei germinative, se numără și se îndepărtează de pe substrat semințele germinate normal, precum și cele mucegăite sau putrezite. La îndepărtarea acestora din urmă pensa se dezinfectează cu alcool etilic de 96%, după atingerea lor. Restul semințelor se lasă în continuare la germinat pînă la al doilea termen indicat în tabelul 7.1. pentru specia respectivă. Numărătorile se fac la fiecare repetiție în parte și apoi se calculează media aritmetică, exprimînd rezultatul în cifre întregi. Media semințelor germinate normal, aflată la prima numărare, reprezintă energia germinativă, care se exprimă în procente întrucît corespunde la 100 de semințe și care este un indice ce reflectă viteza germinației. La a doua numărare se procedează în același mod ca la determinarea energiei germinative, după care la numărul semințelor găsite germinate normal se adună cel obținut la prima numărare. Media aritmetică a numărului total de semințe germinate normal reprezintă facultatea germinativă, care se exprimă de asemenea în procente și care este un indice ce arată cîte semințe dintr-un lot sînt capabile să germineze. Rezultatele obținute se trec într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 7.2.

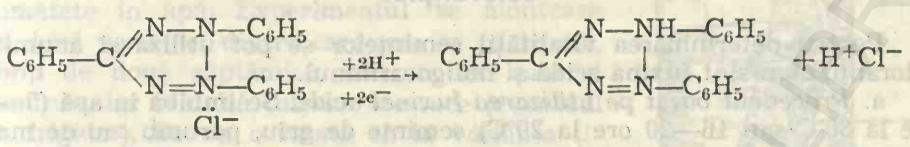
Determinarea energiei și facultății germinative este utilizată pentru stabilirea calității materialului de semănat, care, potrivit standardelor, trebuie să aibă o capacitate și o viteză de germinație stabilite pentru fiecare specie în parte.

7.1.2. DETERMINAREA VITALITĂȚII SEMINȚELOR

Semințele aflate în stare de repaus nu germinează chiar dacă au la dispoziție toate condițiile externe care în mod normal declanșează procesul. Se poate însă afla ce facultate germinativă vor avea după încheierea stării de repaus, prin determinarea vitalității lor, care se face tratînd semințele cu anumite substanțe care colorează diferit celulele vii și cele moarte.

7.1.2.1. Proba cu TTC (clorura de trifenil tetrazoliu)

Acest procedeu, cunoscut și sub denumirea de proba Lakon, se bazează pe faptul că celulele vii sînt capabile să reducă clorura de 2, 3, 5-trifenil tetrazoliu (solubilă și incoloră) în trifenil formazan (insolubil și colorat în roșu), conform reacției:



clorura de 2,3,5-trifenil tetrazoliu (incoloră)

trifenil formazan (culoare roșie)

Ca urmare, celulele vii tratate cu o soluție de TTC 1% (pH=6—7) se colorează, iar cele moarte nu.

Modul de lucru. Proba cu TTC se efectuează cu 100 de semințe, însă pentru uz didactic se folosesc doar două loturi de cîte 20 de semințe de orz. Primul lot este format din semințe vii, iar al doilea din semințe moarte, care se obțin prin fierberea lor în apă timp de 10 minute și uscarea lor ulterioară la aer. Semințele din cele două loturi se imbibă cu apă de conductă timp de 24 de ore, după care se pun din fiecare lot cîte 10 semințe la germinat în cutii Petri pe hîrtie de filtru la întuneric, iar cu celelalte 10 se efectuează proba biochimică. În acest scop se taie semințele în două, în lungime, înjumătățind median embrionul lor (fig. 7.2), se introduc în cutii Petri și se toarnă peste ele o soluție de TTC 1%, pînă ce se acoperă complet. Se țin cutiile Petri 1—8 ore la întuneric, la temperatura de 35°C, după care se examinează semințele și se notează pentru fiecare lot numărul celor cu embrion viu. Sînt considerați vii toți embrionii colorați în roșu-carmin (indiferent de intensitatea culorii) în zona mugurașului și într-o porțiune cît de mică din radiculă. Rezultatele obținute se compară, pentru a putea stabili concordanța lor, cu cele ale probelor paralele de germinație. Dacă experimentul se efectuează cu

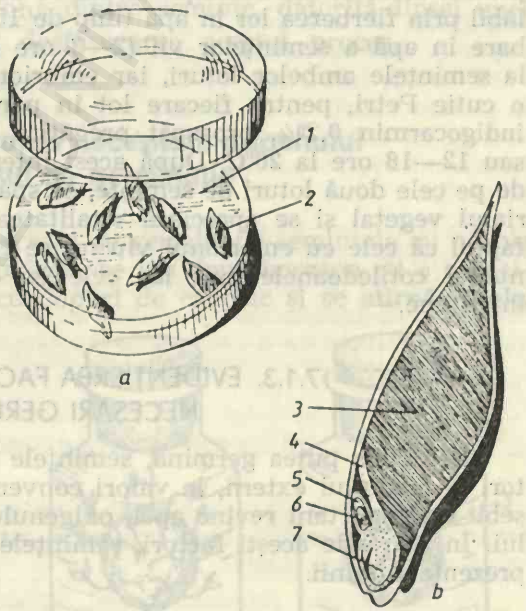


Fig. 7.2. Determinarea vitalității semințelor prin proba cu TTC (după Machlis și Torrey):

a — vedere de ansamblu (jumătățile de semințe sînt puse într-o cutie Petri, în soluție de TTC; b — cariopsă de orz, secționată longitudinal; 1 — soluție de TTC; 2 — jumătate de cariopsă de orz; 3 — endosperm; 4 — scutellum; 5 — coleoptil; 6 — mugura; 7 — radiculă.

semințe de porumb, după 3—4 ore de la așezarea lor în soluție de TTC, se consideră vii acei embrioni care sînt complet colorați sau la care sînt colorați numai mugurașul, radicula și o jumătate din scutellum.

7.1.2.2. Determinarea vitalității semințelor cu ajutorul coloranților

Pentru determinarea vitalității semințelor se pot utiliza și anumiți coloranți, cum sînt fuxina acidă și indigocarminul.

a. *Procedeul bazat pe utilizarea fuxinei acide.* Se imbibă în apă (5—6 ore la 30°C sau 16—20 ore la 20°C) semințe de grîu, porumb sau de mazăre, după care se scot din apă, se șterg și se secționează longitudinal (semințele de mazăre se înjumătățesc prin planul de despărțire al cotiledoanelor). Semințele secționate se introduc apoi într-o soluție de fuxină acidă 0,1% (care se recomandă să fie pregătită în ziua testării materialului vegetal) pentru 10—15 minute. După acest interval de timp se decantează colorantul, se spală semințele de 2—3 ori cu apă distilată și se apreciază vitalitatea lor, folosind drept criteriu faptul că cele cu embrionul viu nu se colorează, iar cele cu embrionul mort vor fi colorate în roșu.

b. *Procedeul bazat pe utilizarea indigocarminului.* Se experimentează în paralel cu două loturi de cîte 20 de semințe de mazăre sau de fasole, primul alcătuit din semințe vii, iar al doilea din semințe omorîte în prealabil prin fierberea lor în apă timp de 15 minute. După o prealabilă imbibare în apă a semințelor vii (2—3 ore la 30°C), se înlătură tegumentele la semințele ambelor loturi, iar embrionii descoperiți se introduc în cîte o cutie Petri, pentru fiecare lot în parte și se acoperă cu o soluție de indigocarmin 0,2%, proaspăt pregătită, în care se țin 3—4 ore la 30°C sau 12—18 ore la 20°C. După acest interval de timp se scurge colorantul de pe cele două loturi de semințe, se spală bine cu apă de conductă materialul vegetal și se apreciază vitalitatea semințelor, luînd drept criteriu faptul că cele cu embrionul viu nu se colorează (sau se colorează parțial numai cotiledoanele lor), iar cele cu embrionul mort se colorează în întregime.

7.1.3. EVIDENȚIEREA FACTORILOR EXTERNI NECESARI GERMINAȚIEI

Pentru a putea germina, semințele au nevoie de prezența unor factori ai mediului extern, la valori convenabile. Dintre aceștia un rol deosebit de important revine apei, oxigenului din aer și temperaturii mediului. În afară de acești factori, semințele unor specii mai au nevoie și de prezența luminii.

7.1.3.1. Evidențierea necesității prezenței în mediu a apei, aerului și a unei temperaturi convenabile pentru germinația semințelor

Necesitatea prezenței în mediu a apei, aerului și a unei temperaturi convenabile pentru germinarea semințelor poate fi evidențiată prin „proba celor trei boabe de fasole", imaginată de *I. Small*. Procedeul constă în

fixarea pe un suport de lemn sau o baghetă de sticlă, cu lungimea de circa 20 cm, a trei boabe de fasole, cîte unul la capetele suportului și unul la mijlocul acestuia, după care se așază suportul într-un pahar Berzelius, în care se pune apă fiartă și răcită (deci degazată) astfel ca bobul din mijloc să fie scufundat pe jumătate în apă. Experimentul se montează în două variante, dintre care una se păstrează, timp de două săptămîni, într-un loc cald și luminos, iar cealaltă într-un loc rece (eventual în frigider). Se va constata că la varianta ținută la căldură bobul din aer nu germinează, deși a dispus de aer și de o temperatură convenabilă, pentru că i-a lipsit apa. Bobul din apă, care s-a aflat în condiții de umiditate și temperatură suficiente, s-a imbibat și a încolțit, însă după consumarea rezervelor de aer (introdus odată cu sămînța) germinația nu a mai continuat datorită lipsei oxigenului. Bobul din mijloc, care a avut la dispoziție toate condițiile externe necesare germinării, germinează și formează o plantulă viguroasă (fig. 7.3). La varianta ținută la rece se constată că nu germinează nici una dintre semințe, datorită lipsei unei temperaturi convenabile pentru desfășurarea acestui proces.

Fig. 7.3. Proba celor trei boabe de fasole (după Small):

1 – suport de lemn; 2 – pahar Berzelius cu apă fiartă și răcită; 3 – inel de cauciuc.

7.1.3.2. Demonstrarea necesității oxigenului în procesul de germinație

Pentru a demonstra că în procesul de germinație semințele au nevoie dintre componentele aerului de oxigen, se iau două borcane cu o capacitate de circa 250 cm^3, astupate cu dopuri de cauciuc și se atîrnă în ele,

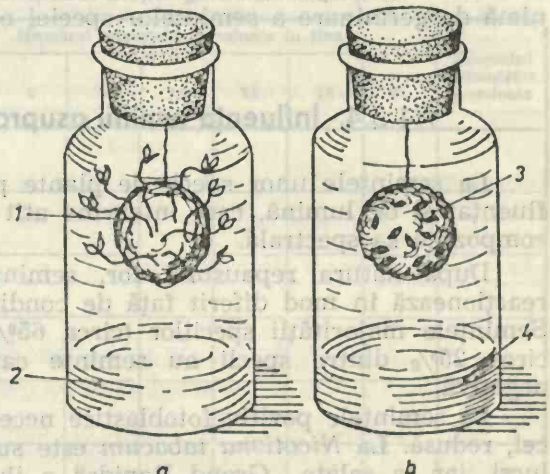


Fig. 7.4. Demonstrarea necesității prezenței oxigenului în procesul de germinație (după Brauner–Bukatsch):

a – în prezența oxigenului semințele germinează; b – în absența oxigenului germinația este împiedicată; 1 – plantule ieșite din ghemul de vată; 2 – apă; 3 – ghem de vată cu semințe; 4 – soluție alcalină de pirogalol.

cu cîte o sîrmă, de dopuri, cîte un ghem de vată umedă, care a fost rostogolit în prealabil în semințe de *Lepidium sativum*. Acestea aderă la vată cu mucilagiile pe care le emit și pot deci să absoarbă apa necesară pentru germinare. În primul borcan se toarnă, înainte de introducerea ghemului de vată, 50 ml de apă, pentru a păstra în mediu o umiditate optimă, iar în al doilea se toarnă o cantitate identică de soluție alcalină de pirogalol (reactivul nr. 30), care este un absorbant ideal al oxigenului. După 5—7 zile se constată că în borcanul în care s-a adăugat apă și care conține oxigen, semințele au germinat și plantulele ies din ghemul de vată, în timp ce în borcanul lipsit de oxigen germinarea semințelor nu are loc (fig. 7.4).

7.1.3.3. Stabilirea temperaturii minime, optime și maxime de germinare a semințelor

Temperatura necesară germinării semințelor este dependentă de adaptarea plantelor la condițiile de mediu.

Pentru stabilirea punctelor cardinale ale temperaturii de germinare a semințelor diferitelor specii de plante, se urmărește germinarea lor pe probe puse în termostate la temperaturi cuprinse între 0—50°C, cu rata crescîndă cu cîte 5°C.

Se experimentează comparativ cu semințe de plante rezistente la frig (grîu, secară, orz, ovăz) și de plante termofile (dovleac, castravete, pepene), care se pun la germinat pe hîrtie de filtru în germinatoare (sau cutii Petri), luînd cîte 50 de semințe pentru fiecare specie. Se determină la fiecare specie și la fiecare temperatură energia și facultatea germinativă și se înscriu rezultatele obținute pentru fiecare specie și variantă (temperatură) în parte în tabele întocmite după modelul prezentat în tabelul 7.2.

Cunoașterea temperaturilor minimă, optimă și maximă de germinare a semințelor diferitelor specii de plante este necesară pentru stabilirea epocii optime de semănat, cunoscut fiind faptul că în momentul începerii semănatului temperatura solului trebuie să depășească temperatura minimă de germinare a semințelor speciei ce urmează să fie semănată.

7.1.3.4. Influența luminii asupra germinării semințelor

La semințele unor specii de plante procesul de germinație este influențat și de lumină, care intervine atît prin intensitatea ei cît și prin compoziția sa spectrală.

După natura repausului lor, semințele fotosensibile (fotoblastice) reacționează în mod diferit față de condițiile de iluminare (tabelul 7.3). Semințele majorității speciilor (circa 65%) sînt pozitiv fotoblastice, iar circa 25% dintre specii au semințe care prezintă o fotosensibilitate negativă.

La semințele pozitiv fotoblastice necesitatea de lumină este, de obicei, redusă. La *Nicotiana tabacum* este suficientă o iluminare de 100 de lucși, iar la salata „Grand Rapids" o iluminare de 400—600 de lucși.

În ceea ce privește compoziția spectrală a luminii, s-a stabilit că regiunea roșie a spectrului este cea mai eficientă în stimularea germinației semințelor de *Lactuca sativa*, iar radiațiile roșu închis (cu λ=730 nm) inhibă germinația acestora.

Pentru evidențierea influenței luminii asupra germinației semințelor se pun în cutii Petri, pe hîrtie de filtru, la germinat cîte 100 de semințe proaspăt recoltate, în două serii paralele (o serie la lumină și cealaltă la întuneric) din următoarele trei categorii de semințe:

— Semințe la care lumina are efect stimulator asupra germinării *(Lycopersicum esculentum, Nicotiana tabacum, Primula);*

— Semințe a căror germinare este inhibată de lumină *(Cucurbita pepo, Nigella sativa, Veronica persica);*

— Semințe indiferente la acțiunea luminii *(Triticum, Panicum miliaceum, Linum usitatissimum).*

Așezarea semințelor în germinatoare se face în camera obscură, la lumină slabă roșie, după care seriile destinate germinării la întuneric

TABELUL 7.3

Specii fotoblastice
(după Wareing P. F., 1969, completat)

Plante la care lumina stimulează germinația	Plante la care lumina inhibă germinația
Amaranthus retroflexus	Amaranthus caudatus
Betula sp.	Cucurbita pepo
Bidens tripartitus	Helleborus niger
Capsella bursa-pastoris	Lamium amplexicaule
Digitalis purpurea	Nemophila insignis
Echium vulgare	Nigella sativa
Epilobium hirsutum	Nigella damascena
Echolotzia sp.	Phacelia tanacetifolia
Fragaria virginiana	Prenanthes purpurea
Juncus sp.	Silene armeria
Kalanchoe blossfeldiana	Veronica persica
Lactuca sativa	
Lepidium virginicum	
Lycopersicum esculentum	
Lythrum salicaria	
Nicotiana tabacum	
Oenothera biennis	
Paeonia sp.	
Phleum pratense	
Poa sp.	
Primula sp.	
Ranunculus sceleratus	
Rumex sp.	
Verbascum thapsus	

TABELUL 7.4

Influența luminii și a întunericului asupra germinării semințelor

Specia	Condiții de germinare	Numărul semințelor germinate în ziua							Procentul semințelor germinate
		3	6	9	12	15	18	21	
Nicotiana tabacum	la lumină								
	la întuneric								
Cucurbita pepo	la lumină								
	la întuneric								
Triticum sp.	la lumină								
	la întuneric								

tuneric se lasă în camera obscură în absența completă a luminii, iar celelalte se așază la lumină. Se stabilește, din trei în trei zile, numărul semințelor germinate în cadrul fiecărei variante și final se calculează procentajul lor, trecînd rezultatele într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 7.4.

7.1.4. INFLUENȚA FACTORILOR INTERNI ASUPRA GERMINAȚIEI

Pentru a putea germina, semințele unor specii de plante au nevoie, în afara prezenței factorilor externi absolut necesari acestui proces, să parcurgă o anumită perioadă de repaus. Acest repaus se poate datora stării fiziologice a embrionului, care are nevoie de o anumită perioadă de postmaturare, sau este determinat de impermeabilitatea tegumentului seminal pentru apă și gaze, sau de prezența unor substanțe inhibitoare în țesuturi. De asemenea, formarea unor plantule viguroase depinde și de integritatea semințelor, întrucît aceasta asigură aprovizionarea normală a embrionului pornit în creștere cu substanțele de rezervă care îi sînt necesare.

7.1.4.1. Influența gradului de postmaturație asupra germinației semințelor

Numeroase semințe, aparent coapte, nu sînt capabile să germineze imediat după recoltare, deoarece embrionul lor nu își atinge maturitatea fiziologică decît după parcurgerea unei perioade de repaus.

Pentru evidențierea influenței gradului de postmaturație asupra germinației, se recoltează diferite soiuri de semințe de porumb incomplet coapte și se împart în două loturi. Cu primul lot se efectuează imediat după recoltare determinarea energiei și facultății germinative, conform procedeului descris la paragraful 7.1.1, iar semințele din lotul rămas se păstrează în pliculețe de hîrtie, la loc uscat, timp de 1—2 luni, după care se supun acelorași determinări. Se va constata creșterea energiei și facultății germinative la semințele din lotul al doilea, în comparație cu valorile obținute la primul lot, supus analizei imediat după recoltare. Rezultatele obținute se consemnează pentru fiecare soi în parte în cîte un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 7.5.

TABELUL 7.5

Influența gradului de postmaturație asupra germinării semințelor

Specia și soiul	Energia germinativă		Facultatea germinativă	
	Imediat după recoltare	După . . . luni	Imediat după recoltare	După . . . luni

7.1.4.2. Influența impermeabilității tegumentului seminal asupra germinației

Semințele plantelor din familiile leguminoase, malvacee etc., posedă în număr mare un tegument impermeabil, sau puțin permeabil, pentru apă și gaze.

Influența impermeabilității tegumentului seminal asupra germinației poate fi pusă în evidență prin următoarele experimente:

a. Se introduc într-un cristalizor cu apă 100 de semințe de *Vicia faba* (bob) sau de *Lupinus albus* (lupin) pentru un interval de timp de 24 de ore, după care se scot semințele neimbibate și se împart în două loturi egale. La cele din lotul 1 se înțeapă tegumentul cu un ac spatulat sau se crestează cu o lamă de ras, pe partea opusă locului în care este situat embrionul, iar cele din lotul 2 se lasă intacte. Se introduc apoi cele două loturi de semințe în apă de conductă, la temperatura de 20°C, în cristalizoare separate și după 12 ore se observă aspectul lor. Se va constata că semințele din lotul 1 se imbibă cu apă, iar cele din lotul 2 se imbibă într-un număr mai redus. Punînd la germinat semințele din cele două loturi, în cîte o cutie Petri, pe hîrtie de filtru, se va constata că cele cărora nu li s-a lezat tegumentul vor germina într-un procent mult mai redus, ca urmare a impermeabilității tegumentului lor seminal, care îngreunează pătrunderea apei și a oxigenului la embrion, împiedicînd pornirea lui în creștere.

b. Se pun la germinat pe hîrtie umedă de filtru, în cutii Petri, la 25°C și la întuneric, cîte 50 de semințe de *Medicago sativa* (lucernă), *Vicia sativa* (măzăriche) sau *Melilotus officinalis* (sulfină), în două variante:

— V_1 — semințe intacte;

— V_2 — semințe cărora li s-a crestat și îndepărtat o mică porțiune din tegumentul seminal, dezvelind țesuturile interne.

După 5—7 zile se numără semințele germinate și se compară procentajul lor în cele două variante.

7.1.4.3. Substanțe inhibitoare ale germinării

Evidențierea substanțelor cu acțiune inhibitoare asupra germinației se poate face prin următoarele experimente:

a. *Substanțe inhibitoare din carnea fructului.* Se pun la germinat în două cutii Petri cîte 30 de semințe de *Lepidium sativum* (creson) sau de *Sinapis alba* (muștar) în două variante:

— V_1 — pe hîrtie umedă de filtru;

— V_2 — pe o felie de fruct (de măr, pară, roșie sau lămîie) așezat peste hîrtia de filtru.

Se acoperă cutiile Petri și se lasă la loc cald, menținîndu-se pe cît posibil umiditatea constantă timp de 14 zile, după care se numără și se calculează procentajul semințelor germinate în fiecare variantă. Rezultatele obținute se consemnează într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 7.6.

b. *Substanțele inhibitoare din sucul de fructe.* Se prepară suc de fructe, presînd printr-o bucată de tifon fructe mărunțite de roșii, mere, pere etc. și i se determină *p*H-ul cu hîrtie indicator universal. După această operație se pun la germinat în trei cutii Petri semințe de *Lepidium sativum*, în următoarele variante:

— V_1 — pe hîrtie de filtru umectată cu apă de conductă;

TABELUL 7.6

Influența substanțelor inhibitoare din carnea fructelor asupra germinației semințelor de . . . . .

Condiții de germinare	Numărul semințelor puse la germinat	Numărul semințelor germinate	Procentul semințelor germinate
Pe hîrtie de filtru umectată cu apă			
Pe felii de fruct de . . .			

— V_2 — pe hîrtie de filtru umectată cu apă de conductă căreia i s-a adăugat în prealabil o cantitate corespunzătoare de H_2SO_4 diluat, pentru a o aduce la același *p*H cu cel al sucului de fructe;

— V_3 — pe hîrtie de filtru umectată cu suc de fructe.

Urmărind numărul de semințe germinate, după 7—14 zile se va putea constata inhibarea germinării semințelor în prezența sucului de fructe, datorită prezenței în el a acizilor organici (malic, tartric, citric).

c. *Substanțele inhibitoare din endosperm.* Se iau 30 de semințe de măr, inhibate în apă de conductă la 20°C, timp de două zile, se repartizează în trei loturi de cîte 10 și se pun la germinat, în trei cutii Petri, pe hîrtie de filtru umectată cu apă de conductă, în următoarele variante:

— V_1 — semințe intacte;

— V_2 — semințe cărora li s-a înlăturat tegumentul seminal (coaja brună), cu ajutorul unui ac spatulat, fără să li se lezeze embrionul și lăsînd intact endospermul (pielița albă care învelește cotiledoanele);

— V_3 — semințe cărora li s-au înlăturat tegumentul seminal și endospermul, reprezentate prin embrioni izolați.

Semințele astfel pregătite se mențin în primele 5—6 zile acoperite cu apă, la temperatura camerei și la lumină, dar nu în lumina solară directă, după care se trec în cutii Petri, pe hîrtie de filtru umectată cu apă de conductă, pentru continuarea procesului de germinare.

Se va constata că în V_1 nu germinează nici o sămînță, în V_2 procentajul semințelor germinate este redus și procesul puțin avansat, iar în V_3 semințele germinează în procent mare și plantulele au radicula lungă și cotiledoanele înverzite (fig. 7.5). Rezultatele obținute se notează într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 7.7.

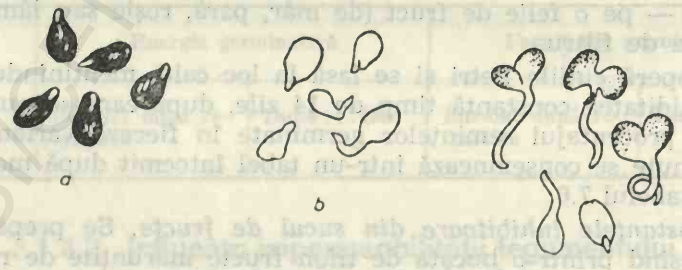


Fig. 7.5. Dovedirea existenței substanțelor inhibitoare ale germinației în endospermul semințelor de măr (după Cupcea):
a — semințe intacte (martor); b — semințe fără tegument; c — semințe fără tegument și endosperm.

TABELUL 7.7

Influența substanțelor inhibitoare din endosperm asupra germinării semințelor de măr

Temperatura . . . °C

Durata observațiilor . . . zile

Varianta	Numărul semințelor puse la germinat	Numărul semințelor germinate	Procentul semințelor germinate

7.1.4.4. Influența integrității semințelor asupra germinației

Integritatea semințelor are o mare importanță în procesul de germinație întrucît favorizează obținerea unor plantule viguroase.

Pentru evidențierea corelației dintre cantitatea substanțelor de rezervă din semințe și creșterea plantulelor, se imbibă în apă de conductă 40 de cariopse mari și egale de grîu, după care se repartizează în patru loturi de cîte 10, constituind următoarele variante:

— V_1 — cariopse întregi (martor);

— V_2 — cariopse cărora li s-a îndepărtat, prin tăiere cu o lamă de ras, 1/4 din endosperm;

— V_3 — cariopse cărora li s-a îndepărtat 2/4 din endosperm;

— V_4 — cariopse cărora li s-a îndepărtat 3/4 din endosperm, fără a li se leza embrionul.

Semințele astfel pregătite se pun la germinat, în cutii Petri, pe hîrtie umedă de filtru, la căldură și întuneric. Urmărind energia și facultatea lor germinativă, conform procedeului descris la paragraful 7.1.1, se va putea constata că energia germinativă este cu atît mai mare cu cît s-a îndepărtat mai mult din endosperm. Rezultatele obținute se consemnează într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 7.8. În ziua a 7-a de la punerea semințelor la germinat, după determinarea facultății lor germinative, se va măsura, la semințele germinate din toate variantele, lungimea rădăciniței și tulpiniței plantulelor, notînd rezultatele într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 7.9 și se vor calcula valorile lor medii pe variante. Rezultatele obținute se vor reprezenta și grafic, separat pentru rădăcinițe și tulpinițe, folosind valorile medii ale măsurătorilor efectuate. Pentru reprezentările grafice se va nota pe ordonată lungimea medie a organului analizat (în mm), iar pe abscisă, la distanțe egale, mărimea endospermului, în următoarea ordine de la originea axelor: 1/4, 2/4, 3/4 și 4/4.

TABELUL 7.8

Influența mărimii endospermului asupra germinației cariopselor de . . . . .

Varianta	Energia germinativă		Facultatea germinativă	
	Numărul semințelor germinate	Procentul semințelor germinate	Numărul semințelor germinate	Procentul semințelor germinate

TABELUL 7.9

Influența mărimii endospermului asupra creșterii plantulelor de . . . . .

Nr. plantulei	Varianta 1		Varianta 2		Varianta 3		Varianta 4	
	Lungimea radiculei (mm)	Lungimea tulpinițel (mm)	Lungimea radiculei (mm)	Lungimea tulpinițel (mm)	Lungimea radiculei (mm)	Lungimea tulpinițel (mm)	Lungimea radiculei (mm)	Lungimea tulpinițel (mm)
1								
2								
.								
.								
.								
10								
Media								

7.1.5. PROCEDEE DE STIMULARE A GERMINĂRII SEMINȚELOR

În practică, pentru întreruperea repausului semințelor, se aplică o serie întreagă de procedee de stimulare a germinației. La semințele cu tegumentul impermeabil germinarea poate fi stimulată prin tratarea lor cu aldehidă acetică sau cu acid sulfuric, iar germinarea semințelor unor specii de plante poate fi stimulată prin tratarea lor cu căldură sau, după caz, cu temperaturi scăzute.

7.1.5.1. Stimularea germinării prin tratamente cu aldehidă acetică

Se iau trei loturi de cîte 100 de semințe de *Poa pratensis, Capsella bursa-pastoris, Salvia pratensis, Chrysanthemum corymbosum* sau de *Saxifraga rosacea* și se așază pe hîrtie de filtru în trei cutii Petri. În prima cutie hîrtia de filtru se umectează cu apă de conductă, în a doua cu o soluție de aldehidă acetică 0,01%, iar în a treia cu o soluție de aldehidă acetică 0,1%. Se acoperă cutiile Petri etanș cu cîte o placă de sticlă și se expun la lumină. Se va constata că tratamentul cu aldehidă acetică mărește energia și facultatea germinativă a semințelor. Rezultatele obținute se înscriu, pentru fiecare variantă în parte, în cîte un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 7.10. Facultatea germinativă va fi egală cu

TABELUL 7.10

Stimularea germinării semințelor de . . . . . prin tratamente cu aldehidă acetică

Tratamentul	Numărul de semințe germinate în ziua							Procentul de semințe germinate
	2	3	4	5	6	7	8 . . . . . n[1]	

[1] Numărarea semințelor germinate se continuă pînă în ziua cînd procentul de semințe germinate în cadrul fiecărei variante (tratament) se stabilizează.

procentul maxim de semințe germinate în cadrul fiecărei variante, iar energia germinativă cu procentul de semințe germinate într-un interval de timp de 1/3—1/2 din numărul de zile necesare pentru obținerea procentajului maxim de germinare a semințelor. Pentru a surprinde cu exactitate valorile energiei și facultății germinative, este necesar să se urmărească zilnic, după procedeul descris în paragraful 7.1.1, evoluția procesului de germinare a semințelor.

7.1.5.2. Stimularea germinării prin tratamente cu acid sulfuric

Se pregătesc 5 cutii Petri, așezînd în primele 4 cîte o hîrtie de filtru care se umectează cu acid sulfuric 10% (reactivul nr. 9), iar în cutia a 5-a o hîrtie de filtru care se umectează cu apă de conductă. Se aleg apoi 5 loturi de cîte 50 de semințe de *Verbascum thapsiforme*, care se supun următoarelor tratamente: lotul 1 se imbibă cu H_2SO_4 10% timp de 5 minute, lotul 2 timp de 10 minute, lotul 3 timp de 20 minute, lotul 4 timp de 60 minute, iar lotul 5 se imbibă cu apă de conductă timp de 60 minute. După expirarea timpilor menționați, semințele tratate cu H_2SO_4 se spală bine (de 3—5 ori) cu apă de conductă și se tratează apoi cu o soluție de NaOH 1%, pentru neutralizare. Imediat după aplicarea tratamentelor, semințele se pun la germinat în cutiile Petri corespunzătoare fiecărei variante, după care se așază cutiile Petri la lumină. După 14 zile de la montarea experimentului, se determină numărul de semințe germinate în cadrul fiecărei variante și se calculează, pe variante, facultatea lor germinativă, care se exprimă în procente.

7.1.5.3. Stimularea germinării prin tratarea semințelor cu căldură

Semințele unor specii de plante au nevoie pentru ieșirea din starea de repaus de temperaturi mai ridicate.

Pentru evidențierea acțiunii stimulatoare a temperaturilor ridicate asupra germinației, se pun la germinat în două cutii Petri, pe hîrtie de filtru, cîte 100 de semințe de *Capsella bursa-pastoris*, în următoarele variante:

— V_1 — pe hîrtie de filtru umectată cu apă de conductă rece, după care se țin la temperatura laboratorului (18—20°C);

— V_2 — pe hîrtie de filtru umectată cu apă caldă (30—40°C), după care se introduc într-un termostat cu ușa de sticlă, unde se țin timp de 12 ore la temperatura de 30—40°C și după tratament se așază alături de prima variantă.

Se numără zilnic, timp de o săptămînă, semințele germinate în fiecare variantă și se stabilește

TABELUL 7.11

Stimularea germinării semințelor de Capsella bursa-pastoris prin tratament cu căldură

Varianta	Numărul de semințe germinate în ziua						Procentul final de semințe germinate
	2	3	4	5	6	7	

procentajul lor. Rezultatele obținute se înscriu într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 7.11. Se va constata mărimea facultății și energiei germinative a semințelor sub efectul tratamentului cu căldură.

7.1.5.4. Stimularea germinării prin tratarea semințelor cu temperaturi scăzute

Numeroase semințe (tabelul 7.12) necesită pentru ieșirea lor din repaus, temperaturi joase. Semințele proaspete de *Rosaceae* (măr, piersic *Rosa)* germinează la 20°C numai dacă în prealabil au fost expuse o perioadă de timp la temperaturi scăzute (0—5°C). Temperaturile scăzute au un efect dublu, prin faptul că distrug inhibitorii germinării și induc sinteza substanțelor de creștere.

Pentru evidențierea efectului stimulator al temperaturilor scăzute asupra germinării, se așază pe hîrtie de filtru, în 7 cutii Petri, cîte 100 de cariopse de cereale, proaspăt recoltate. În primele 4 cutii (variantele 1—4) hîrtiile de filtru se umectează cu cîte 5 ml de apă, iar în celelalte (variantele 5—7) semințele se lasă uscate, urmînd să fie umectate numai după expunerea la frig. Cariopsele din varianta 1 se trec imediat într-un termostat la temperatura de 20—24°C, iar cele din celelalte 6 variante se supun tratamentului cu frig, la temperatura de 1—5°C, pentru următoarele intervale de timp: variantele 2 și 5 timp de 24 de ore, variantele 3 și 6 pentru 3 zile, iar variantele 4 și 7 pentru 7 zile. În momentul în care se scot cutiile Petri din frigider, se adaugă și în variantele cu semințe uscate cîte 5 ml de apă, pentru a umecta hîrtiile de filtru. Pe măsura terminării expunerii la frig se trec cutiile Petri în termostat, la temperatura de 20—24°C. Pe parcursul experimentului se stabilește zilnic numărul de semințe germinate în cadrul fiecărei variante, înscriind rezultatele într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 7.13.

TABELUL 7.12

Specii care necesită temperaturi scăzute pentru întreruperea repausului seminal
(după W a r e i n g P. F., 1969)

Specii lemnoase	
Acer saccharinum	Liriodendron tulipifera
Acer pseudoplatanus	Malus sp.
Betula sp.	Picea sp.
Cornus florida	Pinus sp.
Corylus avellana	Pyrus sp.
Crataegus sp.	Prunus sp.
Cupressus macrocarpa	Ribes grossularia
Fagus silvatica	Rosa sp.
Fraxinus excelsior	Sequoia gigantea
Hammamelis virginiana	Tilia sp.
Juglans nigra	Thuja occidentalis
	Vitis sp.
Specii ierboase	
Alisma plantago-aquatica	Polygonum sp.
Gautheria procumbens	Scirpus campestris
Gentiana sp.	Typha latifolia
Iris versicolor	

Se va constata o grăbire a postmaturației cariopselor în urma tratamentului cu temperaturi scăzute. Numărul semințelor germinate va fi cu atît mai mare cu cît a fost mai lungă expunerea la frig. Asupra semințelor imbibate efectul temperaturilor scăzute va fi mai accentuat decît asupra celor uscate.

TABELUL 7.13

Influența tratamentelor cu temperaturi scăzute asupra germinării cariopselor de cereale

Specia și soiul	Varianta	Numărul de semințe germinate în ziua										Procentul final de germinație
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	

Întrucît semințele unor plante nu germinează decît după ce au fost tratate cu temperaturi scăzute, pentru stimularea germinării lor, în practică se recurge la procedeul denumit „stratificare", care constă în ținerea lor în nisip umed, la rece (în pivnițe, sau chiar sub zăpadă în cursul iernii).

7.2. CREȘTEREA PLANTELOR

Creșterea reprezintă un ansamblu de procese care se soldează cu o mărire ireversibilă a dimensiunilor și masei uscate a plantelor. Desfășurarea procesului de creștere este asigurată la plantele superioare de prezența țesuturilor meristematice, care formează în permanență celule noi, ce își continuă apoi creșterea prin alungire, mărindu-și volumul pînă cînd ajung la dimensiunile caracteristice maturității.

7.2.1. STABILIREA POZIȚIEI ZONELOR DE CREȘTERE A ORGANELOR VEGETATIVE ALE PLANTELOR

Organele plantelor nu cresc în mod egal pe toată întinderea lor. Ele prezintă trei zone distincte: zona creșterii meristematice, zona creșterii prin întindere și zona de diferențiere. Zona creșterii meristematice se reînnoiește mereu ca urmare a faptului că celulele se divid în permanență. Celulele rezultate în urma acestui proces trec continuu în zona creșterii prin întindere, care este sediul celei mai intense creșteri a lor în volum. În zona de diferențiere celulele ajung la maturitate și își încetează creșterea.

7.2.1.1. Stabilirea zonei de creștere la rădăcini

Se iau 2—3 semințe germinate de *Vicia faba* (bob) sau de *Pisum sativum* (mazăre), care au rădăcinile drepte, viguroase, de 1—2 cm lungime. Aceste rădăcini se obțin punînd la germinat în rumeguș umed semințe imbibate în prealabil cu apă, cu 5—7 zile înainte de efectuarea experimentului. Temperatura rumegușului trebuie să fie de 18—20°C pentru bob și de 15—17°C pentru mazăre. Semințele de bob se așază în rumeguș cu partea mai lată în jos, iar cele de mazăre cu hilul în jos, pentru ca radicula embrionului pornit în creștere, în timpul germinației, să crească drept în jos, fără a executa în prealabil o curbură pozitiv ortogeotropă.

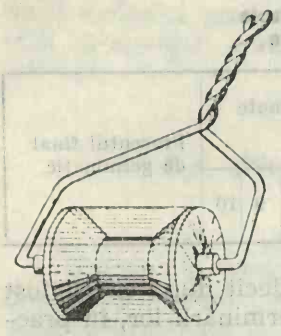


Fig. 7.6. Dispozitiv pentru marcarea organelor în vederea stabilirii poziției zonelor lor de creștere (după Skazkin și colaboratorii).

Pentru stabilirea zonei de creștere a rădăcinii, se scot semințele germinate din rumeguș, se spală radicula lor cu apă și se șterge cu atenție, prin tamponare cu hîrtie de filtru. Se marchează apoi o rădăcină convenabilă ca mărime, începînd de la vîrf, trasînd pe ea 10 linii subțiri, cu ajutorul unui fir de păr de porc fixat într-un băț de chibrit și muiat într-o soluție de negru de fum amestecat cu ulei de parafină. Folosirea tușului nu este recomandabilă, întrucît are o acțiune nefavorabilă asupra creșterii plantelor. Marcarea se face ținînd rădăcina în poziție verticală, alipită de o riglă, pentru a evita inducția geotropică. Operația poate fi efectuată mai ușor, utilizînd un dispozitiv simplu, confecționat dintr-un mosor de lemn, pe care sînt întinse fire de ață la distanța de 1 mm unele de altele (fig. 7.6). Pentru marcarea rădăcinii se trece de cîteva ori ața de pe mosor peste un dop de plută imbibat în lichidul de marcat și apoi se fac semnele necesare prin simpla rotire a dispozitivului pe rădăcina ținută în poziție verticală. După marcare, se înfășoară rădăcina în vată umectată și se străpunge sămînța cu un ac lung, cu care se fixează de partea inferioară a dopului unui mic cilindru de sticlă, în care s-a pus puțină apă și care servește drept cameră umedă (fig. 7.7).

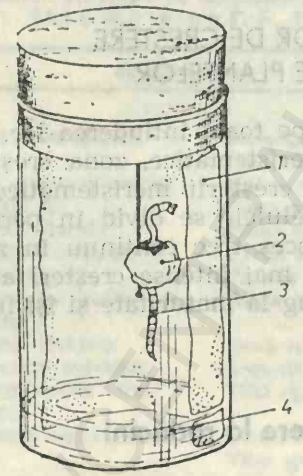


Fig. 7.7. Fixarea plantulei în camera umedă pentru determinarea zonei de creștere a rădăcinii:
1 — hîrtie de filtru umedă; 2 — vată umedă; 3 — rădăcina marcată cu diviziuni echidistante; 4 — apă.

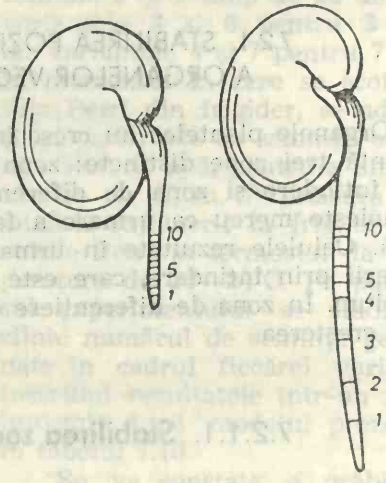


Fig. 7.8. Stabilirea zonei de creștere a rădăcinii (după Rawald):
a — aspectul inițial al rădăcinii marcate; b — aspectul aceleiași rădăcini după 24 de ore.

Pentru asigurarea unei umidități corespunzătoare, este recomandabil ca pereții cilindrului să se căptușească parțial cu hîrtie de filtru, începînd de la porțiunea lui bazală.

TABELUL 7.14

Localizarea zonei de creștere prin alungire la rădăcinile de . . . . .

Numărul diviziunii	Lungimea diviziunii după 24 ore (mm)	Creșterea diviziunii (mm/24 ore)

După 12 și 24 de ore se desenează rădăcina în mărime naturală, cu distanțele exacte dintre linii (fig. 7.8) și se măsoară aceste distanțe, stabilindu-se astfel zona în care diviziunile, inițial echidistante, s-au îndepărtat între ele. Rezultatele obținute după 24 de ore se consemnează într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 7.14. Creșterea fiecărei diviziuni, care se notează în acest tabel, se stabilește făcînd diferența între distanța inițială (1 mm) și cea finală dintre diviziunile trasate.

Datele obținute vor evidenția faptul că zona creșterii prin întindere a rădăcinii este situată în apropierea vîrfului acestui organ, începînd de la diviziunea a doua pînă la diviziunea a zecea, creșterea maximă înregistrîndu-se între diviziunile 2—4.

7.2.1.2. Stabilirea zonei de creștere la tulpinile nearticulate

Se seamănă, într-un ghiveci cu rumeguș de lemn, 10 semințe de floarea soarelui, imbibate în prealabil în apă și 10 semințe de mazăre, îmbibate de asemenea în prealabil în apă, după care se ține ghiveciul 5—7 zile la întuneric, la 20—22°C. După răsărire, se păstrează din fiecare specie cîte două plantule de mărime egală, de aproximativ 4—5 cm înălțime. Se marchează apoi, după procedeul prezentat în paragraful 7.2.1.1, cîte o tulpină de la fiecare specie, de sus pînă jos, cu semne echidistante de 1 mm. La hipocotilul de *Helianthus* marcările se încep de la locul de inserție al cotiledoanelor, iar la epicotilul de *Pisum* de sub frunzișoarele din vîrf. Celelalte două plantule (martor) se marchează cu cîte o singură linie, situată la distanța de 2 cm de la vîrful tulpinii. După două zile, timp în care plantele sînt ținute la întuneric, la temperatura de 22—25°C, se va putea observa că semnele s-au îndepărtat unele de altele, însă nu pe toată lungimea tulpinilor și nu în măsură egală, ci mai ales sub vîrf, iar la baza tulpinilor distanța dintre ele a rămas nemodificată (fig. 7.9).

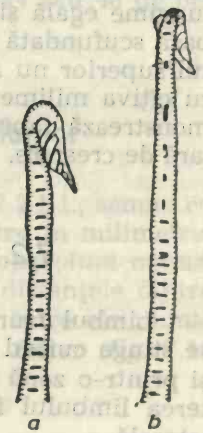


Fig. 7.9. Stabilirea zonei de creștere la tulpinile nearticulate (după Molisch):
a — aspectul inițial al tulpinii marcate; b — aceeași tulpină după 24 de ore.

Prin urmare la tulpină, ca și în cazul rădăcinii, creșterea prin întindere are loc într-o zonă unică, situată mai jos de vîrf, dar pe o distanță mai mare decît la rădăcină, care poate să atingă în unele cazuri mai mulți centimetri. Această amplasare a zonei de creștere se datorește faptului că celulele din vîrful tulpinii se găsesc în zona creșterii meristematice, unde se divid și nu se alungesc, iar cele de la porțiunea bazală a tulpinii au atins dimensiunile maxime în urma creșterii prin întindere.

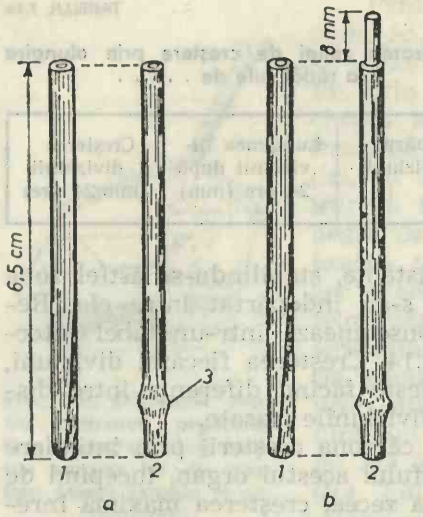


Fig. 7.10. Evidențierea zonei intercalare de creștere la tulpinile de graminee (după Cupcea):

a – internod tăiat transversal în două jumătăți; b – aspectul celor două jumătăți după 12 ore; 1 – jumătatea superioară; 2 – jumătatea inferioară; 3 – nod.

7.2.1.3. Stabilirea zonei de creștere la tulpinile articulate

La tulpinile articulate fiecare internod prezintă o zonă intercalară de creștere. Evidențierea zonelor de creștere la tulpinile articulate se poate face prin următoarele experimente:

a. Se măsoară lungimea exactă a fiecărui internod și nod la o plantă tînără de graminee, care are cel puțin trei internoduri. Se marchează apoi cu linii orizontale, la distanța de 2 mm între ele, conform procedeului prezentat în paragraful 7.2.1.1, cele trei internoduri superioare și după o săptămînă și două săptămîni se repetă măsurătorile și se calculează sporul creșterii pentru fiecare internod și nod. Se va constata că fiecare internod tînăr se alungește, fapt ce dovedește că tulpinile articulate au mai multe zone intercalare de creștere. Remăsurarea distanței dintre liniile de marcare oferă indicii asupra poziției acestor zone de creștere.

b. Se taie dintr-un pai de cereale, care n-a crescut complet, un internod tînăr, împreună cu nodul inferior, după care se secționează la mijloc, transversal, acest fragment de tulpină, obținîndu-se două porțiuni de lungime egală și cunoscută. Se așază cele două segmente într-un vas, cu baza scufundată în apă și după 24 de ore se va putea constata că segmentul superior nu a crescut, în timp ce cel inferior, care are nod, s-a lungit cu cîțiva milimetri, ieșind din teaca frunzei (fig. 7.10). Experimentul demonstrează faptul că deasupra fiecărui internod se află o zonă intercalară de creștere.

7.2.1.4. Stabilirea zonelor de creștere la frunze

Limbul frunzelor prezintă în stadiile tinere o creștere apicală, care se stinge curînd și în locul ei începe să predomine creșterea în suprafață și printr-o zonă intercalară, apropiată de bază. La monocotiledonate creșterea limbului frunzei devine bazală, iar la dicotiledonate bazală și laterală.

Pentru stabilirea zonelor de creștere a limbului frunzelor se alege o frunză tînără, abia pe sfert dezvoltată, de fasole și, fără a o detașa de pe plantă, se trasează pe fața ei superioară două serii de linii, cu negru de fum în ulei de parafină, unele paralele cu nervura mediană, iar celelalte perpendiculare pe primele, astfel ca suprafața frunzei să fie împărțită în pătrățele cu latura de 2 mm. Pentru marcare, se întinde limbul frunzei pe o suprafață convexă (de pildă, pe un flacon de sticlă), iar liniile se trasează cu un păr de porc fixat la un băț de chibrit, folosind ca repere divi-

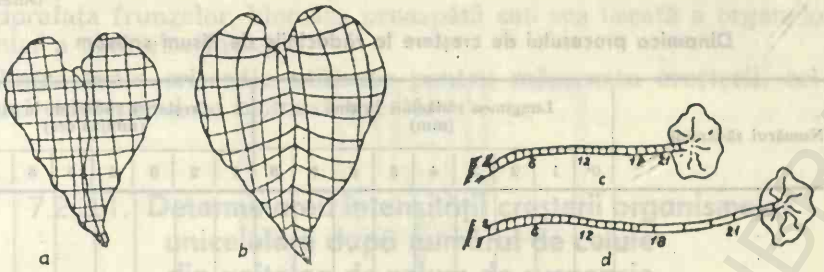


Fig. 7.11. Zonele de creştere ale limbului la frunzele de *Fagopyrum* şi zona de creştere la peţiolul de *Trapaeolum* (după Small):
a — aspectul iniţial al frunzei cu pătrăţelele trasate pe suprafaţa limbului; b — aceeaşi frunză după 4 zile; c — peţiolul cu semnele echidistante trasate pe suprafaţa lui ; d — acelaşi peţiol după 4 zile.

ziunile de pe o hîrtie milimetrică, aşezată sub limb. Pe această hîrtie se desenează şi conturul limbului frunzei, pentru a cunoaşte aspectul lui şi poziţia liniilor de marcare. După 4—5 zile se va putea constata că are loc o deformare a pătrăţelelor trasate pe limb, iar după 2—3 săptămîni, cînd frunza ajunge la dezvoltare completă, se desprinde de pe plantă şi i se desenează din nou conturul şi aspectul final al liniilor trasate pe limb. Deformarea pătratelor evidenţiază o creştere neegală a suprafeţei limbului foliar (fig. 7.11 a şi b). După aspectul final al caroiajului de pe suprafaţa limbului se va putea observa că frunza are o creştere oarecum difuză, situată către bază şi pe cele două margini ale limbului.

Dacă experimentul se efectuează cu o frunză tînără de la o plantă monocotiledonată (de pildă de porumb) crescută în ghiveci, prin marcarea limbului pe o porţiune de la vîrf şi de la baza sa, după 24 sau 48 de ore se va putea constata că ea creşte prin porţiunea sa bazală.

7.2.1.5. Stabilirea zonei de creştere a peţiolurilor

Se trasează, după procedeul prezentat în paragraful 7.2.1.1., semne cu negru de fum amestecat cu ulei de parafină, din milimetru în milimetru, pe toată lungimea unui peţiol tînăr de la o frunză de *Tropaeolum majus*, fără a o detaşa de pe plantă. După 5—6 zile, măsurînd distanţele dintre semnele trasate, se va putea constata că s-au îndepărtat între ele numai primele 6—7 semne din imediata vecinătate a limbului foliar (fig. 7.11 c şi d).

7.2.2. EVIDENŢIEREA DINAMICII PROCESULUI DE CREŞTERE

Măsurătorile efectuate, la perioade constante de timp, la celule, organe sau la plantele întregi, pun în evidenţă faptul că creşterea lor nu este constantă în timp, ci prezintă un mers caracteristic.

Pentru evidenţierea particularităţilor procesului de creştere, se pun la germinat, într-un ghiveci cu rumeguş de lemn umectat, seminţe de mazăre, îmbibate în prealabil timp de 24 de ore în apă de conductă. După

TABELUL 7.15

Dinamica procesului de creștere la rădăcinile de Pisum sativum

Numărul rădăcinii	Lungimea rădăcinii în ziua (mm)									Creșterea rădăcinii în ziua (mm/24 ore)							
	0[1]	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8
1																	
.																	
.																	
6																	
Media																	

[1] Ziua începerii experimentului.

ce rădăcinițele plantulelor provenite în urma germinației ating o lungime de circa 6—7 mm, se aleg 4—6 semințe germinate, cu rădăcinile pe cît posibil egale, se spală pentru a îndepărta rumegușul de pe suprafața lor, se usucă prin tamponare cu hîrtie de filtru și se trasează pe suprafața lor, conform procedeului prezentat în paragraful 7.2.1.1, cîte un semn cu negru de fum amestecat cu ulei de parafină, la o distanță de 5 mm, începînd de la vîrful lor. După marcarea rădăcinilor, plantulele se cresc în camera umedă, conform procedeului prezentat în paragraful 7.2.1.1 și se măsoară zilnic, timp de 8 zile, lungimea rădăcinilor de la vîrf pînă la semnul trasat pe ele, notînd rezultatele într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 7.15. Valorile medii ale datelor obținute se reprezintă grafic, notînd pe abscisă numărul zilelor în care s-au făcut măsurătorile, iar pe ordonată lungimea medie a rădăcinilor și sporul lor de creștere în intervalele de timp dintre măsurători. Curba care va exprima lungimea totală a rădăcinii va avea forma literei S, fiind o curbă sigmoidă, iar cea care redă sporul ei zilnic în lungime va fi o curbă unimodală, în formă de clopot (fig. 7.12).

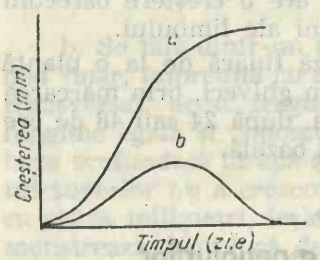


Fig. 7.12. Curbele creșterii plantelor (după Thompson): a — curbă sigmoidă care exprimă creșterea totală (lungimea organului); b — curbă în formă de clopot care exprimă sporul de creștere între intervale de timp egale.

7.2.3. PROCEDEE DE MĂSURARE A INTENSITĂȚII CREȘTERII

În funcție de particularitățile diferitelor organisme, pentru determinarea intensității creșterii se folosesc mai multe procedee.

La organismele unicelulare creșterea poate fi apreciată după sporirea numărului de celule, după mărirea dimensiunilor celulelor provenite în urma diviziunilor, după sporul de volum în urma înmulțirii lor, sau după sporul de biomasă uscată într-un anumit interval de timp.

La plantele superioare creșterea poate fi apreciată după modificările pe care le suferă într-un interval de timp lungimea organelor, volumul

lor, suprafața frunzelor, biomasa proaspătă sau cea uscată a organelor lor sau chiar a plantelor întregi.

Dintre toate criteriile utilizate pentru măsurarea creșterii, cel mai elocvent este sporul de biomasă uscată.

7.2.3.1. Determinarea intensității creșterii organismelor unicelulare după numărul de celule din unitatea de volum de suspensie

Creșterea plantelor unicelulare (alge acvatice, drojdii), care se soldează cu sporirea numărului de celule, se poate aprecia prin determinarea la microscop, la intervale de timp constante, a numărului de celule existente într-o picătură de suspensie bine omogenizată și raportarea acestui număr la unitatea de volum (1 ml) și unitatea de timp (intervalul dintre două determinări succesive).

Pentru determinare se utilizează hemocitometrul Thoma (fig. 7.13), care este confecționat dintr-o lamă de sticlă ceva mai mare decît o lamă portobiect și are gravate pe suprafața lui unul sau două patrate cu suprafața de 1 mm^2, subdivizate prin serii de linii perpendiculare unele pe altele în 400 de pătrățele. Dacă se pune cu ajutorul unei pipete pe hemocitometru, deasupra acestor patrate, cîte o picătură de suspensie de organisme unicelulare, bine omogenizată în prealabil prin așezarea vasului cu suspensia pe platina unui agitator magnetic, pentru a asigura repartizarea uniformă a organismelor unicelulare în mediul de cultură, și se acoperă picăturile cu o lamelă, excesul de suspensie se scurge prin șănțulețele existente în vecinătatea zonei pe care sînt gravate patratele. Datorită acestui fapt, deasupra patratelor, care sînt gravate la o adîncime de 0,1 mm, rămîne un volum de suspensie de 0,1 mm^3. Pentru evaluarea numărului de celule existente în unitatea de volum de suspensie se numără celulele aflate deasupra a 80 de pătrățele grupate în patru șiruri de cîte 20 în lungul celor patru linii de demarcație, notate în figura 7.13 cu I, II, III și IV. La numărare se iau în considerație și celulele care se ating de una din laturile mici *(l)* și una din laturile mari *(L)* ale celor patru șiruri de cîte 20 de pătrățele.

Numărul de celule *N*, existente într-un mm^3 de suspensie, se calculează după formula:

$$N = n \cdot \frac{400}{80} \cdot 10,$$

în care:

n=numărul total de celule existente în cele 80 de pătrățele în care s-a efectuat numărarea;

400=numărul total de pătrățele din cadrul patratului;

80=numărul de pătrățele în care s-a efectuat numărarea;

10=coeficient pentru calcularea numărului de celule la 1 mm^3 de suspensie.

Din această formulă rezultă că $N = n \cdot 50$. Pentru a afla numărul de celule existente într-un mililitru de suspensie, se înmulțește valoarea găsită cu 1 000, sau se aplică formula $N = n \cdot 50\,000$.

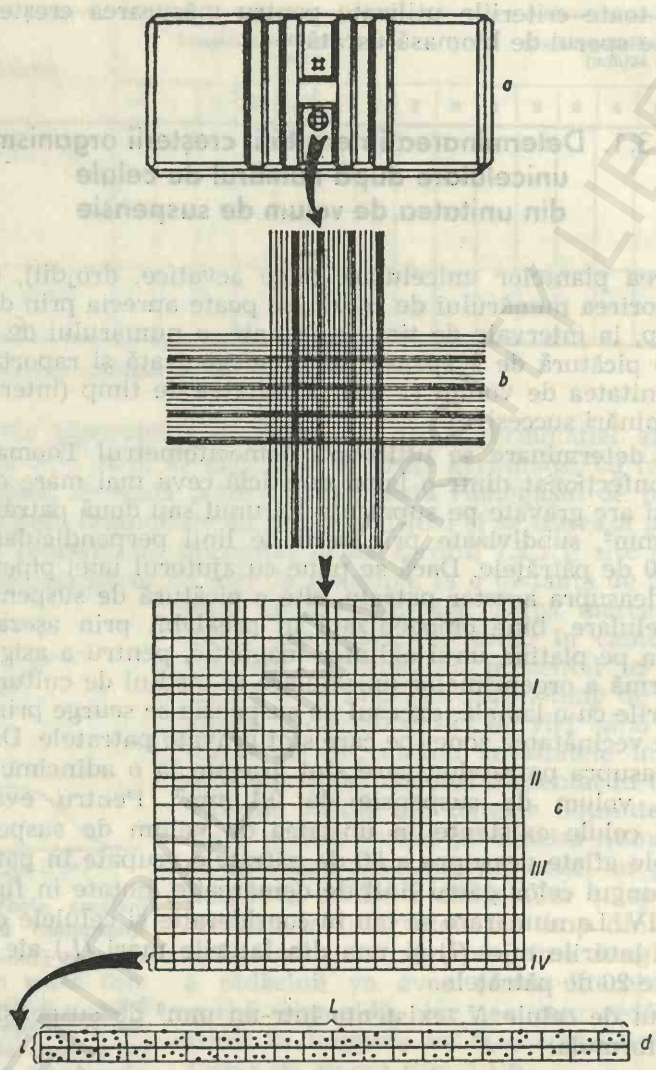


Fig. 7.13. Reprezentarea schematică a modului de numărare a algelor unicelulare cu ajutorul hemocitometrului Thoma: a — hemocitometrul Thoma (vedere de ansamblu); b — zona divizată a hemocitometrului (mărită); c — pătratul cu suprafața de 1 mm² subdivizată în 400 de pătrățele (mult mărit); cifrele I, II, III și IV indică liniile de demarcare a celor patru șiruri de cite 20 de pătrățele în care se numără celulele; d — un șir de 20 de pătrățele, mult mărit (la numărare se iau în considerație și celulele care se suprapun sau se ating de una dintre laturile mari L și de una dintre laturile mici l ale fiecărui șir de pătrățele; celulele algale sînt reprezentate prin puncte).

BCUIASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Pentru obținerea unor rezultate mai exacte se recomandă ca numărarea celulelor să se facă cel puțin în cinci picături de suspensie așezate deasupra patratelor hemocitometrului, luînd în considerație media valorilor obținute la numărări.

Intensitatea creșterii se poate aprecia prin repetarea acestor determinări la intervale constante de timp (o zi, două sau trei zile). Rezultatele obținute se înscriu într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 2.13.

7.2.3.2. Determinarea intensității creșterii organismelor unicelulare prin măsurarea dimensiunilor lor

Creșterea organismelor unicelulare poate fi determinată prin măsurarea dimensiunilor lor la microscop. Evaluarea este mai ușoară în cazul celulelor sferice (ca la *Chlorella*), la care se măsoară diametrul. La cele alungite trebuie stabilite atît lungimea cît și lățimea medie a celulelor.

Pentru efectuarea măsurătorilor se înlocuiește ocularul obișnuit al microscopului cu un ocular micrometric, a cărui scară are de obicei diviziuni de 1/10 mm, adică 0,1 mm sau de 100 μ. Privind suspensia de organisme unicelulare așezată între lamă și lamelă se repereză o celulă tînără, în curs de creștere și se stabilește numărul diviziunilor care acoperă diametrul, în cazul cînd ea este sferică, sau lungimea maximă și lățimea maximă, în cazul cînd este alungită, notînd valorile găsite.

Întrucît valorile stabilite nu corespund cu adevăratele dimensiuni ale celulei, după repetarea măsurătorilor la intervale constante de timp, pentru determinarea mărimii reale a celulei tinere luată sub observație, se stabilește valoarea micrometrică pentru combinația ocular-obiectiv utilizată la determinări.

Determinarea valorii micrometrice se face cu ajutorul unui micrometru obiectiv (fig. 7.14). Acesta este confecționat dintr-o lamă de sticlă, în mijlocul căreia este gravată o scară milimetrică cu lungimea de 1 mm, împărțită în 100 de părți, astfel încît o diviziune a sa corespunde la 1/100 mm, adică la 10 μ. Se așază micrometrul obiectiv la microscop și se pune la punct imaginea scării lui, folosind ca reper cele trei cercuri concentrice în care este cuprinsă scara gradată. După aceea se deplasează micrometrul obiectiv pînă ce scara lui se suprapune cu cea a micrometrului ocular și se stabilește, prin numărare, cîte diviziuni ale micrometrului obiectiv se suprapun exact unui număr de diviziuni de pe micrometrul ocular (fig. 7.15).

Valoarea micrometrică se calculează cu ajutorul relației:

$$\frac{a \cdot 10}{b},$$

în care a reprezintă numărul de diviziuni de pe micrometrul obiectiv, care acoperă exact b diviziuni de pe micrometrul ocular, iar 10 este un coeficient de transformare rezultat din faptul că micrometrul obiectiv este împărțit în 1/100 mm, iar cel ocular în 1/10 mm.

După determinarea valorii micrometrice, adică a valorii unei diviziuni de pe micrometrul ocular (care se exprimă în microni), se calculează dimensiunile reale ale celulei, înmulțind numărul de diviziuni găsite

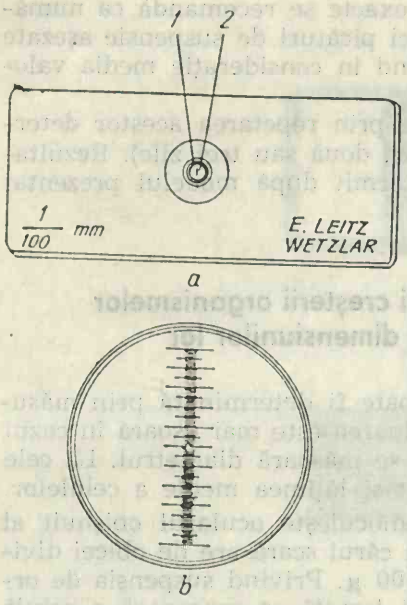


Fig. 7.14. Micrometrul obiectiv utilizat pentru determinarea valorii micrometrice (după Cupcea):

a — lama cu micrometrul obiectiv gravat în zona centrală; b — scara gradată a micrometrului, mult mărită (1 mm împărțit în 100 diviziuni; o diviziune=1/100 mm=10 μ); 1 — cadrul micrometrului; 2 — scara gradată.

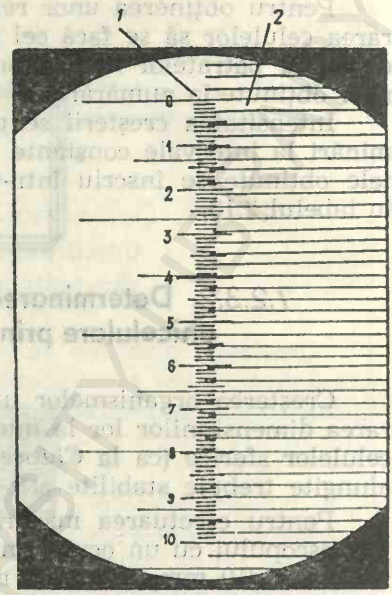


Fig. 7.15. Determinarea valorii micrometrice (după Cupcea):

1 — micrometru ocular; 2 — micrometru obiectiv; din imagine, care reprezintă cele două scări micrometrice suprapuse în cîmpul microscopului, se vede că diviziunea 20 de pe micrometrul obiectiv se suprapune peste diviziunea 53 de pe micrometrul ocular, deci, în cazul exemplificat, 20 de diviziuni de pe micrometrul obiectiv acoperă exact 53 de diviziuni de pe micrometrul ocular.

la măsurătorile efectuate cu valoarea micrometrică. Diferența dintre două măsurători succesive va reflecta intensitatea creșterii celulei în intervalul de timp dintre două determinări succesive.

7.2.3.3. Determinarea intensității creșterii organismelor prin măsurarea volumului lor în fracțiuni identice de suspensie prelevate din mediul de cultură

Măsurarea creșterii organismelor unicelulare se poate face prin centrifugarea, la intervale constante de timp, a unor fracțiuni egale de suspensie, luate din vasul de cultură după o agitare prealabilă a suspensiei, pe platina unui agitator magnetic, pentru a asigura repartizarea lor uniformă în mediul de cultură. După omogenizare, fracțiunile de suspensie se introduc în eprubete mici, conice, gradate, fără a întrerupe agitarea suspensiei din vasul de cultură și se centrifughează, iar după centrifugare se măsoară volumul depozitului din eprubete. Prin acest procedeu se

evaluează volumul unui mare număr de celule, iar intensitatea creșterii se apreciază după sporul de volum al sedimentului din eprubetele de centrifugă în intervalul de timp dintre două determinări succesive.

7.2.3.4. Determinarea intensității creșterii organismelor unicelulare prin măsurarea sporului de substanță uscată

Pentru determinarea intensității creșterii se iau, la intervale constante de timp, volume egale (de pildă de 100 ml) de suspensie aflată sub agitare magnetică în vasul de cultură, pentru a se asigura repartizarea uniformă a organismelor în mediu și se filtrează prin hîrtie de filtru cu pori foarte fini și cu masa inițială uscată cunoscută, după care se usucă hîrtia de filtru pînă la masă constantă. Diferența dintre masa finală și cea inițială a hîrtiei de filtru va reprezenta biomasa uscată a organismelor unicelulare care s-au aflat în volumul de suspensie supus filtrării. Determinarea se face conform procedeului descris în paragraful 2.8. Intensitatea creșterii se estimează după sporul de substanță uscată realizat în volume identice de suspensie, în intervalul dintre două determinări succesive.

7.2.3.5. Determinarea intensității creșterii organelor plantelor prin măsurători cu rigla sau șublerul

În cercetările asupra creșterii rădăcinilor, tulpinilor sau a frunzelor, ori a circumferinței sau diametrului tulpinilor, uneori sînt satisfăcătoare simple măsurători lineare. Acestea se efectuează la un număr mare de exemplare din organele supuse studiului și, pentru obținerea unor rezultate cît mai apropiate de valorile reale, se calculează media măsurătorilor.

Este recomandabil ca, în scop didactic, determinarea intensității creșterii să se efectueze primăvara, la plante care cresc repede (dintre plantele de grădină la *Polygonum orientale*, dintre cele de seră la bambus, iar în laborator la plantule de porumb, fasole sau mazăre cultivate în ghivece). Măsurătorile trebuie făcute la intervale constante de timp. Intensitatea creșterii se exprimă prin sporul parametrilor analizați, raportat la unitatea de timp (o zi, 7 zile), în funcție de periodicitatea măsurătorilor efectuate.

7.2.3.6. Determinarea intensității creșterii organelor plantelor prin măsurarea volumului lor

Se toarnă într-un cilindru gradat, cu dimensiuni corespunzătoare mărimii organului cercetat, apă pînă la un nivel care se notează. Se scufundă organul plantei în apa din cilindru, astfel ca ea să-l acopere complet, se înlătură cu ajutorul unei baghete de sticlă bulele de aer care apar, eventual, pe suprafața organului și se citește pe cilindrul gradat nivelul la care s-a ridicat apa. Diferența dintre volumul indicat de nivelul final și cel inițial al meniscului apei din cilindru reprezintă volumul organului.

În cazul cînd măsurătorile impun folosirea unui cilindru de volum mai mare, care are gradații ce corespund la valori de volum mai mari de 1 ml, după introducerea organului plantei în cilindru se adaugă în el apă cu ajutorul unei pipete, pînă cînd meniscul apei din cilindru ajunge exact la nivelul diviziunii următoare. Scăzînd din diferența volumului indicat de nivelul final și cel inițial al meniscului apei din cilindru, volumul de apă adăugată din pipetă, se poate afla cu mai multă exactitate volumul organului.

Procedeul poate fi utilizat pentru determinarea intensității creșterii sistemului radicular al plantelor cultivate pe soluții nutritive. Prin efectuarea măsurătorilor la intervale constante de timp (7 zile) și raportarea diferenței dintre două determinări succesive, se poate stabili intensitatea creșterii, care se exprimă în cm^3/intervalul de timp luat în considerare.

7.2.3.7. Determinarea intensității creșterii suprafeței frunzelor

Suprafața frunzelor se poate afla prin măsurarea dimensiunilor lor principale (lungimea maximă — L și lățimea maximă — l) și înmulțirea produsului acestor valori cu un coeficient de corecție K, corespunzător speciei respective, stabilit pe baza raportului existent între suprafața reală a frunzelor și suprafața figurilor geometrice în care se pot incadra, după forma lor asemănătoare, frunzele diverselor specii de plante.

Procedeul se bazează pe faptul că frunzele unui mare număr de specii de plante pot fi incadrate cu ușurință în figuri geometrice asemănătoare cu suprafața limbului lor. Frunzele gramineelor se pot incadra într-un dreptunghi, cele de *Populus nigra* într-un triunghi, cele de *Fagus silvatica* într-o elipsă, iar cele de *Tropaeolum majus* într-un cerc (fig. 7.16).

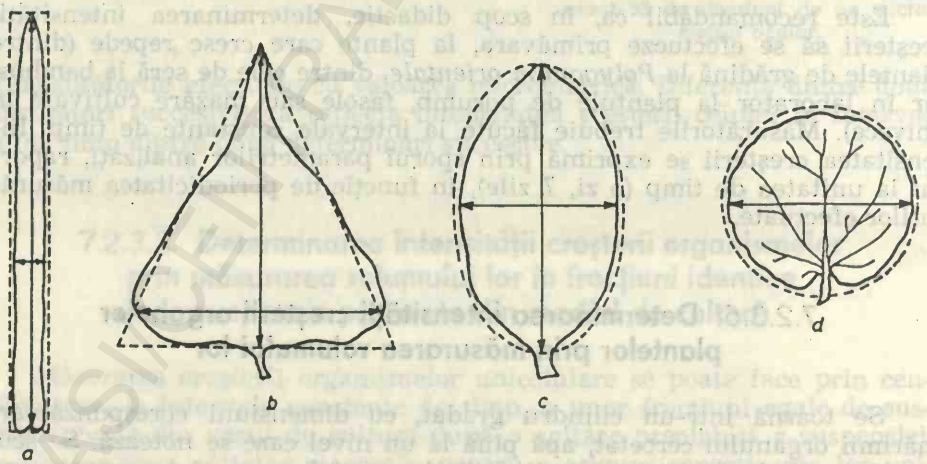


Fig. 7.16. Figurile geometrice în care pot fi incadrate frunzele diferitelor specii de plante: a — frunzele de graminee pot fi incadrate într-un dreptunghi; b — cele de *Populus nigra* într-un triunghi; c — cele de *Fagus silvatica* într-o elipsă; d — cele de *Tropaeolum majus* într-un cerc; (săgețile indică dimensiunile care se măsoară la fiecare tip de frunză în parte).

Rezultă că prin determinarea suprafeței acestor figuri geometrice și a suprafeței reale a frunzelor care se încadrează în ele, se poate stabili, pe baza unui număr mare de determinări, un coeficient de corecție pentru fiecare specie în parte (tabelul 7.16).

TABELUL 7.16

Coeficienții de corecție utilizați pentru determinarea suprafeței foliare a unor specii de plante

Planta	Coeficientul de corecție (K)	Autorii
Grîu	0,65	Lazarov R. (1965)
Orz	0,64	Lazarov R. (1965)
Ovăz	0,655	Lazarov R. (1965)
Orez	0,66	Lazarov R. (1965)
Floarea-soarelui	0,68	Aston J. M. (1967)
Lucernă	0,71	Lazarov R. (1965)
Bumbac	0,69	Ross V. (1967)
Vișin	0,67	Rubin S. S. și Danilevskaia O.M. (1957)
Păr	0,675	Rubin S. S. și Danilevskaia O. M (1957)

Pentru determinarea intensității creșterii frunzelor se măsoară, la intervale constante de timp, fără a detașa frunzele de pe plantă, lungimea lor maximă (L) și lățimea lor maximă (l) și se află apoi suprafața lor cu ajutorul relației L.l.K, luînd pentru K valoarea corespunzătoare pentru specia luată în studiu, din tabelul 7.16. Intensitatea creșterii se exprimă prin sporul de suprafață (în dm^2) realizat în intervalul de timp dintre două determinări succesive.

Acest procedeu poate fi utilizat și pentru determinarea creșterii suprafeței foliare a plantelor, în cazul cînd măsurătorile se fac, la intervale constante de timp, la toate frunzele de pe plantele luate în cercetări.

7.2.3.8. Determinarea intensității creșterii organelor plantelor după sporul de masă proaspătă

Pentru determinarea intensității creșterii organelor plantelor prin acest procedeu gravimetric, se recoltează la intervale de timp constante un număr identic din organele de cercetat, sau plante întregi și se cîntăresc imediat după recoltare, pentru a se evita pierderea din ele a unor cantități prea mari de apă. În cazul cînd acest lucru nu este posibil, pînă la efectuarea cîntăririlor, materialul vegetal se păstrează în ambalaje impermeabile. Intensitatea creșterii se apreciază după sporul de masă realizat de materialul vegetal în intervalul de timp dintre două determinări succesive.

Procedeul prezintă avatajul că materialul vegetal se cîntărește în stare vie, dar rezultatele obținute prezintă inconvenientul că masa lui proaspătă suferă modificări în timp, în funcție de variațiile condițiilor de mediu și în funcție de factorii interni, proprii organelor sau organismelor cercetate.

7.2.3.9. Determinarea intensității creșterii organelor plantelor după sporul de substanță uscată

Pentru evaluarea intensității creșterii prin acest procedeu, se determină masa proaspătă a organelor de cercetat și apoi se mărunțește materialul vegetal pe o placă de sticlă sau de porțelan și se amestecă bine

pentru omogenizare, în vederea obținerii unei probe medii. Din această probă se cîntărește o cantitate de 5—10g, care se introduce într-o fiolă de cîntărit cu tara cunoscută și se usucă pînă la masă constantă, conform procedeului prezentat în paragraful 1.3.3.6. Pentru stabilirea masei uscate a organelor cercetate, după determinarea cantității de substanță uscată din proba medie, se aplică relația:

$$\frac{C \cdot B}{A},$$

în care:

C=masa proaspătă a organului cercetat (în grame);

B=masa uscată a probei utilizate (în grame);

A=masa proaspătă a probei supuse uscării (în grame).

Prin determinări efectuate la intervale de timp constante, pe material vegetal proaspăt recoltat, se poate aprecia intensitatea creșterii lui, care se exprimă prin sporul de substanță uscată realizat în intervalul de timp dintre două determinări succesive.

7.2.3.10. Determinarea intensității creșterii plantelor cu ajutorul microscopului orizontal

Creșterea vîrfului unui organ (coleoptil, rădăcină etc.) se poate măsura cu microscopul orizontal, dotat cu un micrometru ocular.

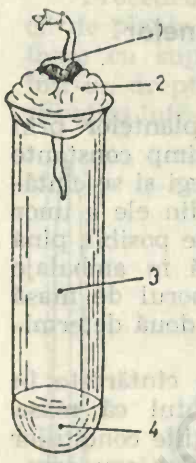


Fig. 7.17. Fixarea plantulelor pentru urmărirea creșterii rădăcinii la microscopul orizontal (după Cupcea):

1 – plantulă de mazăre; 2 –vată; 3 – aer umed; 4 – apă.

Pentru determinarea intensității creșterii rădăcinilor, coleoptilelor sau tulpinii, se pun la germinat semințe de *Vicia faba* (bob), *Pisum sativum* (mazăre) sau de *Zea mays* (porumb), pe hîrtie de filtru, într-o cutie Petri, cu 5—7 zile înainte de determinare. În preziua începerii determinării se alege o plantulă cu rădăcini perfect drepte, i se înfășoară sămînța din care a provenit în vată umedă și se fixează în poziție verticală într-o eprubetă, pe fundul căreia se toarnă în prealabil puțină apă, astfel ca radicula să atîrne liber, vertical, în atmosferă umedă (fig. 7.17).

Înainte de a face măsurătorile, se fixează vertical într-un stativ, în fața obiectivului microscopului, o riglă milimetrică și se numără cîte diviziuni de pe micrometrul ocular se încadrează într-un milimetru de riglă. Valoarea, în milimetri, unei diviziuni de pe scara micrometrică se află din relația $\frac{1}{n}$, în care n reprezintă numărul de diviziuni de pe micrometrul ocular, care se încadrează într-un milimetru de pe riglă.

După aflarea valorii micrometrice, se fixează eprubeta cu planta într-un stativ și se reperează la microscop vîrful organului de studiat, după care scara micrometrului ocular se așază în lungul axei organului (fig. 7.18). Se potrivește diviziunea zero de pe scara micrometrică în dreptul vîrfului organului și se citește la intervale de timp de cîte 10 minute în dreptul cărei diviziuni se va

afla vîrful acestuia, în urma creşterii prin alungire. În cazul cînd se determină intensitatea creşterii la coleoptile, se recomandă ca măsurătorile să fie făcute în camera obscură la lumină roşie, pentru a se evita curburile fototropice.

Intensitatea creşterii, exprimată în mm/h, se află din media a 10 determinări succesive, înmulţind numărul mediu de diviziuni cu care s-a deplasat vîrful organului cercetat, cu valoarea micrometrică şi cu coeficientul 6 întrucît determinările s-au făcut la intervale de cîte 10 minute.

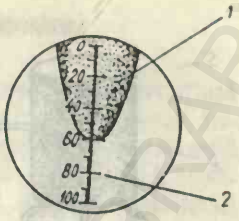


Fig. 7.18. Determinarea intensităţii creşterii coleoptilului cu ajutorul microscopului orizontal: vîrful coleoptilului (1), aşezat iniţial în dreptul diviziunii zero de pe micrometrul ocular (2), s-a deplasat în urma creşterii pînă în dreptul diviziunii 60, în cazul exemplificat.

7.2.3.11. Determinarea intensităţii creşterii tulpinii plantelor cu ajutorul auxanometrelor

Auxanometrele sînt dispozitive care servesc la măsurarea creşterii prin întindere a tulpinilor. Cu ajutorul lor se obţine o prezentare amplificată, pe cale mecanică, a creşterii, care se urmăreşte pe un cadran gradat în cazul cînd se lucrează cu auxanometrul improvizat, sau se înregistrează în cazul cînd se lucrează cu auxanometrul înregistrator.

Pentru determinarea intensităţii creşterii se pot folosi plantule de *Phaseolus vulgaris* sau de *Lupinus albus*, înalte de 5—10 cm, crescute în ghivece, la temperatură constantă (22—25°C) şi în lumină naturală. Instalaţia necesară determinării se montează pe o consolă, sau un suport care nu trepidează, astfel ca planta să primească lumină din toate părţile, pentru ca să se excludă curburile fototropice ale tulpinii, care ar putea genera erori. Acest deziderat se realizează cel mai uşor prin iluminarea plantei, de sus, sau prin aşezarea unei oglinzi în partea opusă direcţiei din care vine lumina, în cazul cînd se foloseşte lumina naturală de la o fereastră.

Auxanometrul improvizat (fig. 7.19) se confecţionează dintr-un fir de pai, lung de 21 cm, care se perforează cu un ac cu gămălie înro-

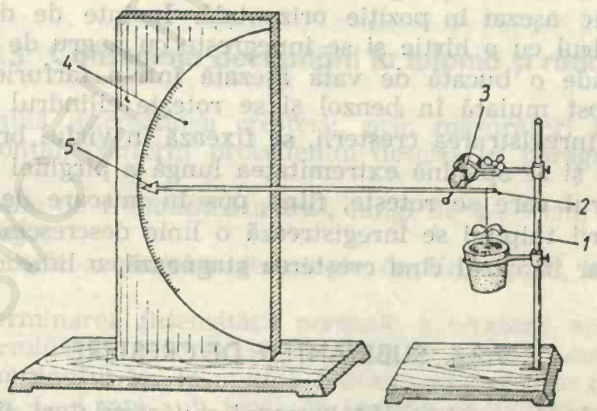


Fig. 7.19. Auxanometrul improvizat:
1 — plantula; 2 — fir de pai; 3 — dop de plută; 4 — suportul din lemn, cu scara gradată; 5 — indicator.

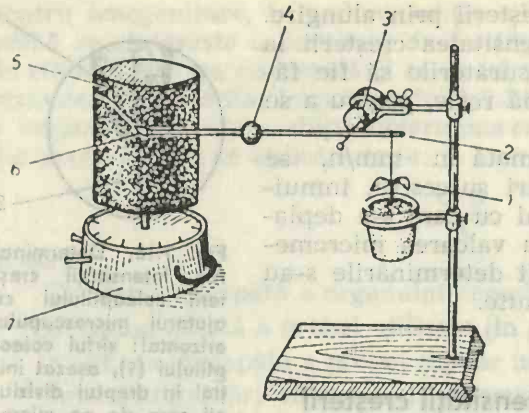


Fig. 7.20. Auxanometrul înregistrator (după Brauner–Bukatsch):
1 – plantula; 2 – fir de pai; 3 – dop de plută; 4 – bilă din ceară; 5 – cilindru acoperit cu hîrtie înnegrită; 6 – înscriitor; 7 – ceasornic al cărui ax rotește cilindrul.

șit în flacără, la 1 cm de la un capăt. Se trece apoi acul prin această perforație, pentru a servi ca axă și se fixează într-un dop de plută, susținut de clema unui stativ. Se obține astfel o pîrghie, ale cărei brațe sînt în raport de 1:20 și care se rotește cu minimum de frecare într-un plan vertical. În capătul brațului lung al paiului se fixează un mic triunghi de hîrtie colorată, care va servi ca indicator și în dreptul lui se așază un suport de lemn pe care se fixează o scară gradată în cm și mm, în formă de arc. Vîrful tulpinii plantei se leagă cu un fir inextensibil (de mătase) de extremitatea brațului scurt al pîrghiei cu puțină ceară roșie, pentru a evita alunecarea lui pe pai.

În timpul creșterii tulpinii se produce ridicarea brațului scurt al pîrghiei și coborîrea brațului lung al acesteia. Se notează, din 30 în 30 de minute poziția indicatorului pe cadranul gradat, timp de 3—4 ore, iar intensitatea creșterii se exprimă în mm/h, pe baza mediei citirilor, ținînd cont de faptul că aceste citiri au fost amplificate de 20 de ori de către pîrghia auxanometrului.

Auxanometrul înregistrator (fig. 7.20) se deosebește de cel improvizat prin faptul că în locul cadranului gradat se așază un cilindru înregistrator, care se rotește pe o axă verticală, reprezentată prin axul unui ceasornic așezat în poziție orizontală. Înainte de determinări se acoperă cilindrul cu o hîrtie și se înnegrește cu negru de fum. În acest scop se aprinde o bucată de vată așezată într-o farfurie, după ce în prealabil a fost muiată în benzol și se rotește cilindrul deasupra flăcării. Pentru înregistrarea creșterii, se fixează în vîrful brațului lung al paiului un ac și se sprijină extremitatea lungă a pîrghiei auxanometrului de cilindrul care se rotește, fiind pus în mișcare de ceasornic. În timpul creșterii tulpinii se înregistrează o linie descrescîndă, sub forma unei curbe, iar în cazul cînd creșterea stagnează, o linie orizontală.

7.2.4. SUBSTANȚELE DE CREȘTERE

Substanțele de creștere (fitohormoni sau regulatori ai creșterii) acționează asupra proceselor morfogene și reglează corelațiile fiziologice dintre diferitele organe ale plantelor.

7.2.4.1. Acțiunea auxinei asupra rizogenezei

Pentru a studia influența auxinelor asupra rizogenezei, se iau două loturi de cîte 20 de butași (de *Tradescantia* sau *Coleus)* la care s-au îndepărtat frunzele de pe porțiunea inferioară și se împart în două serii de cîte 10 butași. Seria I se tratează, ținîndu-se 12 ore cu capătul inferior scufundat într-o soluție de acid β-indolil acetic 0,02% (reactivul nr. 6), în camera obscură, iar seria II se ține același număr de ore cu baza în apă de conductă, fără adaus de auxină. După tratare, se pun butașii la înrădăcinat, fiecare serie în cîte o lădiță cu nisip umed (sau în vase de sticlă cu apă de conductă, înfășurate în hîrtie neagră), la temperatura de 23—25°C, într-un loc cu umiditate mare. După două săptămîni se scot plantele din mediul pe care au fost crescute, se spală și se examinează, stabilind numărul rădăcinilor formate, volumul acestora[1] și lungimea lor pentru fiecare specie. Datele obținute vor evidenția acțiunea favorabilă a auxinei asupra rizogenezei.

7.2.4.2. Acțiunea auxinei asupra creșterii tulpinii

Se cultivă din timp, în trei ghivece, cîte 10 plantule de *Helianthus anuus,* pînă ce tulpinile lor au atins înălțimea de 4—5 cm. Se prepară apoi două paste, una cu auxină (reactivul nr. 29) și alta cu apă (reactivul nr. 28). Se taie hipocotilele plantulelor din ghivecele I și II la 4 mm sub locul de inserție al cotiledoanelor. Prin această înlăturare a vîrfului plantulelor se suprimă sursa lor de auxină endogenă. Plantulele din ghiveciul III se lasă intacte și servesc drept martor.

După pregătirea plantulelor, se unge suprafața de secțiune a celor din ghiveciul I cu pastă de auxină, folosind în acest scop un bețișor de lemn, iar a celor din ghiveciul II cu pastă cu apă. Urmărind, timp de două zile, creșterea în lungime a plantulelor, se va constata că cele martor, care dispun de auxină endogenă și cele cărora li s-a furnizat auxină din exterior cresc normal, în timp ce plantulele care au fost lipsite de auxină își opresc creșterea.

7.2.4.3. Consecința decapitării la tulpină și rădăcină

Se determină intensitatea creșterii, prin măsurători făcute la microscopul orizontal, conform procedeului descris în paragraful 7.2.3.10, la:

— Hipocotile de *Helianthus anuus,* lungi de 4—6 cm, sau la coleoptile de *Zea mays;*

— Rădăcinițele semințelor germinate de *Vicia faba,* sau *Phaseolus vulgaris.*

După determinarea intensității normale a creșterii acestor organe, se repetă determinările pe organele decapitate, adică în condiții în care s-a micșorat conținutul lor în auxină. Decapitarea se face tăind la hipocotile vîrful, la 4—6 mm sub locul de inserție al cotiledoanelor, la coleoptile la 3 mm de la vîrf, iar la rădăcini la 1—2 mm de la vîrf.

[1] Volumul se determină după procedeul prezentat în paragraful 7.2.3.6.

Se va constata că tulpina (hipocotilul și coleoptilul) își sistează creșterea în urma decapitării, iar rădăcina își intensifică temporar creșterea după îndepărtarea vîrfului, ca urmare a faptului că aceste organe au o sensibilitate diferită față de concentrația auxinei. Din aceste determinări rezultă concluzia că la tulpini concentrația naturală în auxină este corespunzătoare pentru stimularea creșterii, iar la rădăcini ea este supraoptimală.

7.2.4.4. Acțiunea 2,4 D asupra mono și dicotiledonatelor

Acidul 2,4-diclorfenoxiacetic (2,4 D) este o substanță auxinomimetică. Pentru evidențierea acțiunii lui asupra creșterii plantelor mono și dicotiledonate, se seamănă în amestec semințe de cereale, și de buruieni în lădițe cu pămînt (sau pe o parcelă în cîmp) și după ce au răsărit, se stropesc plantele cu o soluție de 2,4 D 0,5—1%, folosind o cantitate de 200 ml soluție/m^2. După o săptămînă se va putea observa îmbolnăvirea dicotiledonatelor (ofilirea lor), iar după 2—3 săptămîni moartea lor, în timp ce monocotiledonatele continuă să crească normal. Această acțiune selectivă a 2,4 D asupra buruienilor și cerealelor și-a găsit în practică o aplicație la plivitul chimic.

7.2.5. REGENERAREA PLANTELOR

Regenerarea reprezintă capacitatea unor anumite porțiuni desprinse de pe o plantă de a reface în întregime planta respectivă. Această însușire a plantelor stă la baza înmulțirii vegetative a plantelor superioare, care este larg aplicată în practică.

7.2.5.1. Regenerarea la rădăcini

Pentru evidențierea capacității rădăcinilor de a regenera planta întreagă, se scot primăvara din sol mai multe exemplare de *Taraxacum*, se spală rădăcinile lor tinere și se taie în bucăți cu lungimea de 2—3 cm, formînd butași, care se plantează în pămînt la o adîncime de 2—3 cm, sau se pun în lădițe cu nisip umed udat cu soluție nutritivă Knop, a cărei rețetă este prezentată în tabelul 2.4, după care se așază lădițele la căldură (23—25°C) și lumină naturală. Se va constata că pe fiecare segment de rădăcină vor apărea lăstari, din care se vor forma prin regenerare plante noi.

7.2.5.2. Regenerarea la tulpini și ramuri

Se taie fragmente de ramuri de salcie, de 8—10 cm, sau fragmente de ramuri de mușcată și se implîntă cu capătul tăiat în nisip umed. Se va putea constata că ele vor forma calus pe suprafața secționată și mai tîrziu rădăcini adventive.

7.2.5.3. Regenerarea la frunze

Cercetările referitoare la regenerarea la frunze se efectuează, de preferință, vara sau primăvara.

Frunzele unor plante sînt capabile să formeze rădăcini, dar nu formează muguri, deci nu formează plante noi. Astfel, dacă se ține peţiolul frunzei de *Aucuba japonica* în apă de conductă, la temperatura de 23—25°C, ea formează rădăcini adventive (fig. 7.21, a). Frunza poate trăi în astfel de condiții mai mulți ani. Experimentul reușește și cu frunze de *Fucus* sau de lămîi.

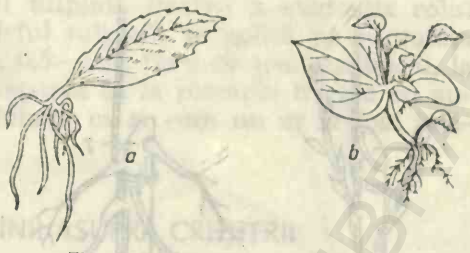


Fig. 7.21. Regenerarea la frunze:
a – la *Aucuba japonica* (după Molisch); b – la *Begonia rex* (după Stoppel și Hansen).

Există însă și plante ai căror butași de frunză pot forma și muguri. Această însușire se manifestă la frunzele de *Begonia rex* (fig. 7.21 b), dacă se așază cu fața inferioară în cutii Petri pe nisip umed, implîntîndu-le cu secțiunea peţiolului în acest substrat. Dacă se secționează limbul lor în cîteva locuri cu o lamă, pe nervura mediană, se va constata că după o perioadă de timp pe aceste tăieturi se va forma calus, iar după aceea apar rădăcini adventive și apoi muguri care dau lăstari, regenerîndu-se astfel întreaga plantă.

7.2.6. POLARITATEA

Polaritatea este un fenomen foarte răspîndit la plante, care indică o diferențiere morfologică și fiziologică profundă. Fenomenul se datorește faptului că în organizația plantelor există un vîrf (pol apical) și o bază (pol bazal), care reacționează diferit din punct de vedere morfologic și funcțional.

7.2.6.1. Polaritatea la ramuri

Se aleg, în februarie sau martie, două ramuri de *Salix fragilis*, lungi de 20—30 cm și cu diametrul de 10—12 mm, astfel ca să aibă muguri sănătoși pe toată lungimea lor. Se atîrnă acești butași în poziție verticală într-un cilindru de sticlă în care s-au pus 15—20 ml de apă și ai cărui pereți au fost căptușiți cu hîrtie de filtru, pentru a se asigura în interior o atmosferă saturată cu vapori de apă. Fixarea butașilor se face cu ajutorul unor sfori care se prind cu ace de partea inferioară a dopului de plută al cilindrului. Pentru aerisire, prin dopul cilindrului se trece un tub de sticlă, care asigură legătura cu atmosfera externă. Unul dintre butași se atîrnă în poziție normală (cu extremitatea apicală în sus), iar celălalt în poziție inversată. Se țin butașii, timp de 2—3 săptămîni, la o temperatură de 23—25°C și la întuneric, controlîndu-i periodic pentru observarea creșterii și pentru recompletarea apei evaporate din cilindru. Se va putea constata că, indiferent de poziția butașilor, mugurii

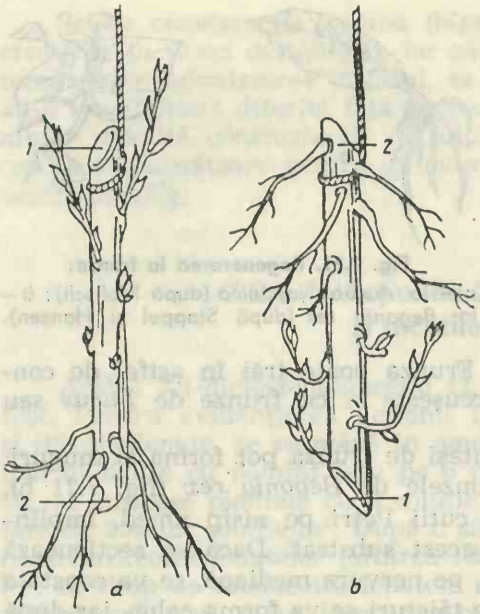


Fig. 7.22. Butași de salcie crescuți în cameră umedă (după Rawald):
a — în poziție normală; b — în poziție inversată; 1 — polul apical; 2 — polul bazal.

dorminzi din regiunea lor apicală (polul caulinar) dau ramuri laterale, iar la partea bazală din punct de vedere morfologic (polul bazal) formează rădăcini (fig. 7.22).

7.2.6.2. Polaritatea la rădăcini

Se iau trei serii de butași radiculari de *Taraxacum*, lungi de 2—3 cm și se plantează în lădițe cu pămînt, în următoarele variante: V_1 în poziție normală, V_2 în poziție inversată și V_3 în poziție orizontală. Se va constata că pe acești butași apar lăstari mai întîi la V_1 și V_3 și abia mai tîrziu la V_2. Restituția are loc polar, întrucît formarea lăstarilor se limitează la capătul superior din punct de vedere morfologic al acestor fragmente de rădăcini, indiferent de poziția acestora.

7.2.7. EVIDENȚIEREA FENOMENELOR DE CORELAȚIE

Corelațiile dintre diferitele părți ale plantelor au rol important în creșterea organelor vegetative. Este cunoscută influența mugurelui terminal asupra creșterii mugurilor laterali. Acest fenomen, cunoscut și sub denumirea de dominanță apicală, este foarte răspîndit la plante. În cazul cînd se îndepărtează prin tăiere vîrful tulpinii, mugurii laterali încep să crească, formînd fiecare cîte o ramură. Dacă însă, după îndepărtarea mugurelui terminal, pe suprafața de secționare se pune auxină (acid β-indolil acetic, în concentrația de 0,5—1%, mugurii laterali se dezvoltă uniform și cu aceeași intensitate ca și la plantele intacte (martor). Dacă pe suprafața de secțiune se aplică citochinine (în concentrația de 0,5—1%), se constată anularea inhibiției corelative. În schimb, giberelinele (acidul giberelic în concentrația de 0,3—0,5%) accentuează dominanța apicală, stimulează rata de creștere a tulpinii și intensifică sinteza auxinei.

Pentru experiment sînt potrivite plantele ierboase, care cresc repede: *Vicia faba, Phaseolus multiflorus, Coleus.* Bobul și fasolea se cresc în ghivece cu pămînt, pînă cînd s-au dezvoltat bine primele două frunze. Se îndepărtează apoi la mai multe plantule vîrful (mugurele terminal), iar altele se lasă intacte (martor). Se mențin apoi plantele în condiții favorabile pentru creștere (la lumină naturală și o temperatură de 23—25°C). Se va constata că mugurii axilari iau o dezvoltare deosebită la plantele decapitate, datorită încetării acțiunii de inhibare cauzată de concentrația prea mare a auxinei provenită în condiții nor-

male (la plantele intacte) din vîrful tulpinii. Pentru a evidenția rolul inhibitor exercitat de auxina din vîrful tulpinii, se aplică pe suprafața secționată a tulpinii o soluție de AIA 0,5—1%, timp de trei săptămîni, la intervale de timp de 7 zile. Se va constata că la plantele tratate cu auxină (AIA), mugurii laterali sînt inhibați, ca și cum nu ar fi fost înlăturat vîrful tulpinii plantelor.

7.2.8. INFLUENȚA LUMINII ASUPRA CREȘTERII

Dacă se compară aspectul și dimensiunile plantelor crescute la lumină și la întuneric, se va constata că lumina are o acțiune remarcabilă de schimbare a aspectului plantelor. Plantele etiolate (crescute la întuneric) diferă de cele crescute la lumină prin modificări anatomice, morfologice și de culoare.

Pentru evidențierea influenței luminii asupra creșterii plantelor se pot efectua următoarele experimente:

a. Se seamănă într-o pereche de ghivece cîte 10 semințe ale unei plante dicotiledonate (*Phaseolus vulgaris, Pisum sativum, Helianthus anuus* sau *Tropaeolum majus*) și într-o altă pereche cîte 10 semințe ale unei plante monocotiledonate (*Triticum sp.* sau *Zea mays*), după care se expune din fiecare pereche de ghivece cîte unul la lumină, iar celelalte se așază alături de ele și se acoperă cu cîte o cutie opacă față de lumină, ca plantele care vor răsări să crească la întuneric.

După 2—3 săptămîni, examinînd plantele, se va constata că cele etiolate (cultivate la întuneric) sînt lipsite de clorofile și au o colorație alb-gălbuie. Se măsoară la toate plantele înălțimea tulpinii, grosimea ei

TABELUL 7.17

Influența luminii asupra creșterii la . . . . .

Condiții de creștere	Nr. plantei	Înălțimea tulpinii (cm)	Grosimea tulpinii (cm)	Lungimea maximă a frunzei (cm)					Lățimea maximă a frunzei (cm)				
				1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
La lumină	1												
	2												
	.												
	.												
	10												
	Media												
La întuneric	1												
	2												
	.												
	.												
	10												
	Media												

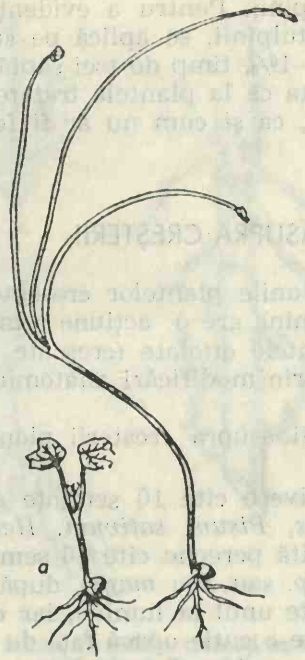


Fig. 7.23. Etiolarea la *Tropaeolum majus* după Troll):
a — plantă crescută la lumină; b — plantă crescută la întuneric.

Fig. 7.24. Etiolarea la cartof (după Brauner — Bukatsch):
a — plantă crescută la lumină; b — plantă crescută la întuneric.

(totdeauna la nivelul aceluiași internod) și lungimea și lățimea frunzelor, notînd datele în cîte un tabel, separat pentru dicotiledonate și monocotiledonate, întocmit după modelul prezentat în tabelul 7.17. Pe baza datelor obținute se va putea constata că dicotiledonatele și monocotiledonatele reacționează în mod diferit la lipsa luminii. La dicotiledonatele etiolate tulpinile sînt mai alungite și mai subțiri decît la cele crescute la lumină, iar frunzele lor sînt mai mici, ceea ce evidențiază faptul că lumina stimulează creșterea în suprafață a limbului (fig. 7.23). În cazul monocotiledonatelor tulpinile celor două serii de plante nu se deosebesc prea mult în privința creșterii lor, în schimb, la plantele etiolate frunzele cresc mult mai mult în lungime, dar sînt ceva mai înguste decît cele ale plantelor crescute la lumină.

b. Se cultivă, în nisip umed, cartofi care au început să încolțească, în două variante: la lumină și la întuneric. După 2—3 săptămîni, se vor constata diferențe mari între plantele crescute la lumină și cele crescute la întuneric (fig. 7.24). Plantele care au crescut la lumină vor avea frunzele mari și verzi și tulpinile bine dezvoltate, iar cele etiolate vor avea tulpinile lungi și palide, pe care se vor găsi frunze extrem de reduse.

8

DEZVOLTAREA PLANTELOR

Dezvoltarea reprezintă ansamblul transformărilor calitative care au loc în corpul plantelor în cursul ciclului lor de viață. Aceste transformări se concretizează, în majoritatea cazurilor, printr-o serie de procese morfologice.

Pentru parcurgerea ciclului lor vital, plantele manifestă, în funcție de particularitățile condițiilor de mediu la care s-au adaptat în cursul evoluției lor, o serie de cerințe față de prezența, valoarea de intensitate și durata de acțiune a anumitor factori ai mediului extern. Dintre aceste cerințe ale plantelor sînt mai bine cunoscute cerințele față de factorul temperatură și față de factorul lumină. Dacă acești factori nu se găsesc în mediu la valori de intensitate sau durate de acțiune conforme cu cerințele plantelor, dezvoltarea unora dintre ele este împiedicată sau frînată, fapt ce influențează posibilitățile lor de a-și încheia ciclul de viață.

8.1. EVIDENȚIEREA ROLULUI TEMPERATURII ASUPRA DEZVOLTĂRII PLANTELOR

Un mare număr de plante nu pot înflori decît în cazul cînd dispun de posibilitatea parcurgerii unui anumit număr de zile, în funcție de particularitățile de specie, în cursul cărora temperatura este scăzută și cuprinsă între anumite valori caracteristice pentru specia dată. Este cazul plantelor bienale, care în primul an formează o rozetă de frunze, iar în al doilea an, după parcurgerea perioadei de frig, din timpul iernii, înfloresc și fructifică.

Pentru evidențierea efectului temperaturii asupra înfloririi plantelor, se seamănă toamna, pe o parcelă în cîmpul experimental, grîu de toamnă, iar în primăvara următoare (devreme) se seamănă același soi în vase de vegetație, care se țin în casa de vegetație, seră sau în laborator, pentru a feri plantele răsărite de temperatura scăzută a mediului extern.

La sfîrșitul lunii aprilie sau începutul lunii mai, se îndepărtează, cu ajutorul unui ac spatulat sau a unei pense foarte fine, la cîteva plantule din ambele loturi, frunzulițele care acoperă conul lor de creștere. Așezînd conurile de creștere detașate pe o lamă de microscopie și examinîndu-le la o lupă binocular, se va putea constata că la plantulele care au fost supuse acțiunii frigului, din timpul iernii, deci au fost vernalizate, conul de creștere prezintă o serie de onduleuri, care reprezintă primordiile viitoarelor spiculețe, în timp ce conurile de creștere ale plantulelor care n-au beneficiat de parcurgerea unei perioade de frig, sînt netede (fig. 8.1). Plantulele care au beneficiat în timpul iernii de

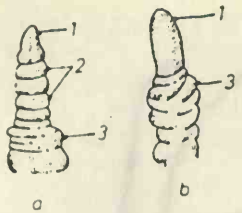


Fig. 8.1. Influența temperaturii asupra dezvoltării la grîu (după Brugovitzky):
a — conul de creștere al unei plante de grîu supusă acțiunii temperaturilor scăzute din timpul iernii; b — conul de creștere al unei plante nevernalizate; 1 — conul de creștere; 2 — primordiile spiculețelor; 3 — primordiile frunzelor.

acțiunea temperaturilor scăzute, sînt capabile să înflorească, după parcurgerea fotoperiodismului (v. paragraful 8.2), în timp ce la cele nevernalizate înflorirea și fructificarea vor fi tardive și slabe.

8.2. EVIDENȚIEREA ROLULUI LUMINII ASUPRA DEZVOLTĂRII PLANTELOR

La multe plante, chiar dintre cele cu vernalizare obligatorie, trecerea de la faza de creștere vegetativă la faza de reproducere, marcată de formarea florilor, este condiționată și de parcurgerea, în funcție de particularitățile de specie, a unui număr anumit de zile cu o anumită durată a perioadei de lumină, deci a unui anumit fotoperiodism.

Pentru evidențierea rolului luminii în declanșarea înfloririi, se cultivă, primăvara, în cîte două vase de vegetație, cîte o specie din următoarele plante:

— în lotul 1 salată sau muștar;
— în lotul 2 crizanteme sau soia;
— în lotul 3 porumb sau floarea soarelui.

După răsărirea plantelor, se ține cîte un vas de vegetație din fiecare lot în condiții de zi scurtă (de 8 ore), acoperind vasele respective, de la orele 16 pînă a doua zi dimineața la ora 8, cu o ladă confecționată din lemn (bine închejată ca să nu lase să pătrundă lumina în interiorul ei) cu înălțimea de 80 cm și cu o lungime și lățime suficiente ca să încapă sub ea trei vase de vegetație.

Udarea plantelor se va face numai în perioadele cînd cele ținute în condiții de zi scurtă se află la lumină.

Făcînd observații periodice asupra plantelor, se va putea constata că:

— Plantele din lotul 1 vor înflori și se vor dezvolta normal numai în condiții de zi lungă. Cele ținute în condiții de zi scurtă nu înfloresc, sau înfloresc cu întîrziere și slab.

— Plantele din lotul 2 înfloresc normal în condiții de zi scurtă, iar în zilele lungi nu înfloresc, sau înflorirea lor este întîrziată.

— Plantele din lotul 3 înfloresc la fel de bine și în același timp atît în condiții de zi lungă, cît și în condiții de zile scurte.

Experimentul demonstrează că după cerințele lor față de lungimea fotoperioadei, adică a perioadei de lumină a zilei, unele plante sînt de zi lungă, altele de zi scurtă, iar altele sînt indiferente față de lungimea perioadei de lumină a zilei.

9

MIȘCĂRILE PLANTELOR

Excitabilitatea și mișcarea, care sînt însușiri esențiale ale materiei vii, se manifestă și la plante.

Mișcările plantelor se împart în mișcări pasive și mișcări active.

Mișcările pasive sînt favorizate de prezența unor adaptări care permit plantelor întregi, sau anumitor organe ale acestora, să fie deplasate de agenți fizici sau biologici dintr-un loc în altul.

Mișcările active sînt efectuate de plante cu propria lor energie. Indiferent de nivelul structurilor la care se manifestă (în interiorul celulelor, sau la organele plantelor), mișcările active pot fi autonome sau induse.

Mișcările autonome sînt executate sub influența unor factori interni, proprii organismelor. La plantele superioare aceste mișcări sînt cunoscute sub denumirea de nutații.

Mișcările induse sînt produse de direcția de acțiune sau de variațiile de intensitate ale unor factori ai mediului extern. Mișcările induse executate de organele plantelor fixate se numesc tropisme, iar cele executate de organele acestor plante sub acțiunea variației de intensitate a unor factori ai mediului extern poartă denumirea de nastii.

9.1. MIȘCĂRILE INTRACELULARE

La nivel celular se manifestă atît mișcări autonome cît și mișcări induse. Dintre aceste mișcări, cel mai ușor se pot pune în evidență mișcările de cicloză, dineză sau curenții citoplasmatici și mișcările cloroplastelor.

a. *Evidențierea curenților citoplasmatici.* Curenții citoplasmatici, care fac parte dintre mișcările autonome, se pot observa cu ușurință la celulele frunzelor de *Elodea canadensis*, după deplasarea cloroplastelor.

Pentru evidențiere, se detașează o frunză de pe o ramură a plantei, se așază în apă între lamă și lamelă, se lasă pentru cîteva minute în apropierea unui bec electric aprins, avînd grijă ca să nu se usuce preparatul și apoi se examinează la microscop. Se va putea observa că în interiorul celulelor (care au o singură vacuolă mare, centrală) cloroplastele se deplasează într-un singur sens (fig. 9.1), în apropierea pereților celulari. Această mișcare a cloroplastelor este imprimată de curenții citoplasmatici, care le antrenează în sensul deplasării citoplasmei.

b. *Evidențierea mișcărilor cloroplastelor.* Cloroplastele își pot schimba locul în interiorul celulelor asimilatoare, în funcție de intensitatea luminii. La lumină slabă ele se așază în apropierea pereților celulari pe

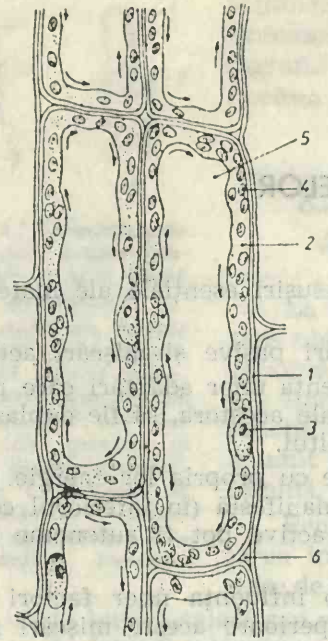


Fig. 9.1. Curenții citoplasmatici din celulele frunzelor de *Elodea canadensis* (după Tarnavschi și colaboratorii):
1 – peretele celular; 2 – citoplasma; 3 – nucleul; 4 – cloroplast; 5 – vacuolă; 6 – spații intercelulare (săgețile indică sensul mișcării citoplasmei).

Fig. 9.2. Mișcările fototactice ale cloroplastelor la *Lemna trisulca* (după Guillier-mond):
a – poziția cloroplastelor în lumină slabă; b – poziția lor în lumină intensă.

care cade lumina, iar în lumină puternică se deplasează spre părțile mai puțin luminate ale celulelor.

Aceste mișcări, care sînt induse de intensitatea luminii, poartă denumirea de fototactism și pot fi puse în evidență cu ajutorul unor plăntuțe de lintiță *(Lemna trisulca)*, puse în două cristalizoare cu apă din mediul lor natural. Unul dintre aceste cristalizoare se așază în lumină difuză, iar celălalt în plin soare, lăsîndu-le în aceste condiții timp de 45 de minute. După scurgerea acestui interval de timp, se examinează la microscop cîte o plăntuță din fiecare cristalizor, așezîndu-le între lamă și lamelă într-o picătură de apă. Se va putea observa că la plăntuța care a fost ținută în lumină difuză cloroplastele sînt repartizate uniform pe toată suprafața celulelor (fig. 9.2 a), deoarece s-au așezat în dreptul pereților situați perpendicular pe direcția razelor de lumină, în timp ce la plăntuța care a stat în plin soare, iluminarea puternică a provocat deplasarea cloroplastelor spre pereții laterali ai celulelor (fig. 9.2 b), paraleli cu direcția razelor de lumină.

9.2. MIȘCĂRILE AUTONOME ALE ORGANELOR PLANTELOR

Mișcările autonome ale organelor plantelor poartă denumirea de nutații și pot fi efemere sau periodice. Aceste mișcări se datoresc unei creșteri neuniforme ale organelor plantelor, în anumite zone ale suprafeței lor.

9.2.1. EVIDENȚIEREA NUTAȚIILOR EFEMERE

Nutațiile efemere se produc uneori o singură dată în viața plantelor. Dintre acestea fac parte mișcările executate de cotiledoanele plantelor cu germinație epigee și mișcările vîrfului tulpiniței, în momentul răsăririi, la unele plante cu germinație hipogee.

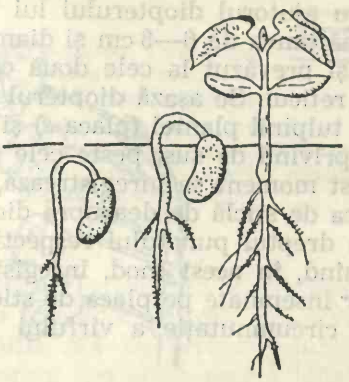


Fig. 9.3. Mişcarea de nutaţie efemeră a cotiledoanelor plantulelor de fasole (după Libbert).

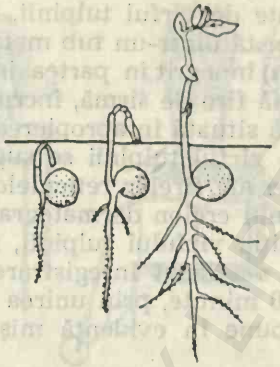


Fig. 9.4. Mişcarea de nutaţie efemeră a vîrfului tulpinii la mazăre (după Libbert).

Pentru evidenţiere, se seamănă într-un ghiveci, cu pămînt bine udat, cîteva boabe de fasole (plantă cu germinaţie epigee) şi într-altul cîteva seminţe de mazăre (plantă cu germinaţie hipogee). Observîndu-le la răsărire, se va constata că la fasole, după ridicarea seminţelor la suprafaţa pămîntului din ghiveci, cotiledoanele, apropiate între ele în sămînţă, se îndepărtează unul de altul, luînd o poziţie mai mult sau mai puţin orizontală, printr-o creştere mai accentuată a feţei lor superioare (fig. 9.3); la mazăre, la care în timpul germinării vîrful tulpiniţei este îndoit în jos în perioada cît străbate stratul de pămînt, se va constata că după răsărire tulpiniţa execută o mişcare prin care se îndreaptă cu vîrful în sus, în urma creşterii mai intense a feţei inferioare a zonei curbate (fig. 9.4).

9.2.2. EVIDENŢIEREA NUTAŢIILOR PERIODICE

Nutaţiile periodice se datoresc, în imensa majoritate a cazurilor, unei creşteri inegale a tulpinilor şi rădăcinilor plantelor pe diferitele laturi ale lor. Ca rezultat, aceste organe descriu cu vîrfurile lor cercuri sau elipse, realizînd mişcările cunoscute sub denumirea de circumnutaţii, care sînt foarte evidente la plantele volubile.

Pentru observarea mişcărilor de circumnutaţie se aşază un ghiveci cu o plantă tînără de *Phaseolus multiflorus* (sau cu altă plantă volubilă) într-un stativ prevăzut în partea superioară cu două plăci de sticlă, distanţate între ele (fig. 9.5). Înregistrarea mişcărilor de circumnutaţie,

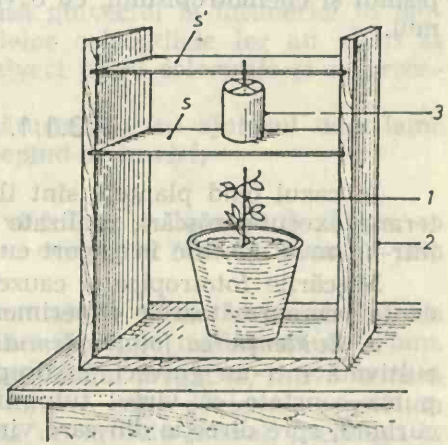


Fig. 9.5. Inregistrarea mişcărilor de circumnutaţie cu ajutorul diopterului lui Wiesner (după Moisescu):

1 — planta cultivată în ghiveci, cu tulpina înfăşurată pe un suport reprezentat printr-o baghetă de sticlă; 2 — stativ; 3 — diopterul lui Wiesner; s şi s' — plăci de sticlă.

executate de vîrful tulpinii, se face cu ajutorul diopterului lui Wiesner, care constă dintr-un tub metalic (cu înălțimea de 6—8 cm și diametrul de 3—4 cm) înnegrit în partea interioară și prevăzut la cele două capete cu cîte două fire de sîrmă, încrucișate în reticul. Se așază diopterul pe placa de sticlă situată în apropierea vîrfului tulpinii plantei (placa *s*) și se mișcă pînă ce vîrful tulpinii se suprapune, privind de sus, peste cele două încrucișări ale firelor reticulelor. În acest moment se înregistrează, cu ajutorul unui creion dermatograf, pe placa de sticlă de deasupra diopterului (*s'*) poziția vîrfului tulpinii, notînd în dreptul punctului respectiv și ora la care s-a făcut înregistrarea. Efectuînd, în acest mod, înregistrări din 20 în 20 minute, prin unirea punctelor însemnate pe placa de sticlă se va putea pune în evidență mișcarea de circumnutație a vîrfului tulpinii plantei.

9.3. MIȘCĂRILE INDUSE ALE ORGANELOR PLANTELOR

Mișcările induse, efectuate de organele plantelor, sînt mișcări provocate fie de anizotropia mediului extern, fie de variațiile de intensitate ale unor factori ai acestuia. Cele provocate de anizotropia direcției de acțiune a unor factori ai mediului extern se numesc tropisme, iar cele determinate de variația de intensitate a unora dintre acești factori poartă denumirea de nastii.

9.3.1. TROPISMELE

Tropismele sînt mișcări de curbură ale organelor plantelor, induse de direcția de acțiune a unor excitanți din mediul extern. Ele se clasifică după natura excitantului. Cele mai importante sînt fototropismul, geotropismul și chemotropismul, cu o variantă a acestuia care este hidrotropismul.

9.3.1.1. Fototropismul

În cazul cînd plantele sînt iluminate unilateral, organele lor suprateranе execută mișcări, realizate prin variații de creștere, orientîndu-se într-un mod specific în raport cu direcția din care vine lumina.

Mișcările fototropice și cauzele care le provoacă pot fi puse în evidență prin următoarele experimente:

a. *Evidențierea fototropismului.* Se așază o plantă tînără de muștată, cultivată într-un ghiveci, în dreptul unei ferestre. După un timp se va putea constata că vîrful tulpinii ei se îndreaptă, printr-o mișcare de curbură, spre direcția din care vine lumina, iar limbul frunzelor se orientează astfel încît suprafața lor să fie perpendiculară pe direcția razelor de lumină (fig. 9.6). Această orientare a limbului frunzelor este o consecință a ortofototropismului pozitiv al pețiolurilor lor, care se orientează spre direcția din care vine lumina și paralel cu aceasta.

b. *Evidențierea rolului determinant al luminii în mișcările fototropice.* Pentru evidențierea rolului determinant al luminii în provocarea mișcărilor fototropice, se seamănă în două ghivece, cu pămîntul bine udat,

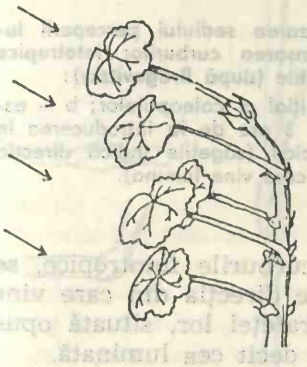


Fig. 9.6. Reacția fototropică la Pelargonium (după Koffler): săgețile indică direcția din care vine lumina.

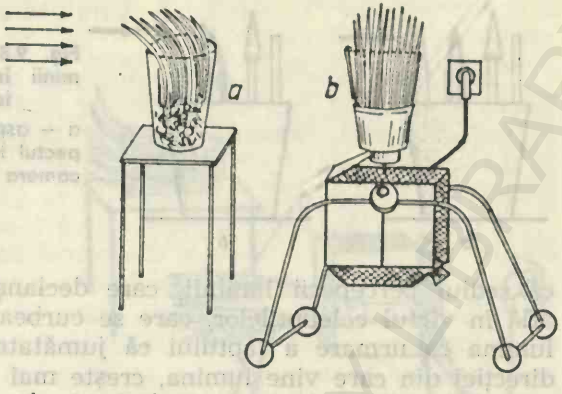


Fig. 9.7. Evidențierea rolului luminii în declanșarea curburilor fototropice:
a — plantele martor; b — plantele ținute pe clinostatul cu ax vertical, care execută 6 rotații pe oră; săgețile indică direcția din care vine lumina.

cariopse de grîu. După răsărirea plantelor, moment pînă la care ghivecele se țin la întuneric, unul dintre ghivece se așază în dreptul unei ferestre, iar celălalt se fixează pe un clinostat cu ax vertical, alături de primul. Punînd în funcțiune clinostatul, după 2—3 zile se va putea constata că plantulele care au fost supuse unei mișcări constante de rotație pe clinostat, astfel ca să fie iluminate periodic pe toate fețele lor, cresc drept în sus (fig. 9.7 b), în timp ce plantele așezate lîngă fereastră execută o mișcare de curbură, îndreptîndu-se spre direcția din care vine lumina (fig. 9.7 a).

c. *Evidențierea sediului percepерii luminii în declanșarea mișcărilor fototropice.* Se însămînțează într-un ghiveci, cu pămînt bine umectat, cariopse de ovăz sau de grîu și se așază ghiveciul la întuneric. În momentul cînd în urma răsăririi plantulelor coleoptilele lor au ajuns la înălțimea de circa 1,5 cm, se lasă în ghiveci patru coleoptile și se procedează în modul următor:

— un coleoptil se decapitează, înlăturîndu-i, cu ajutorul unei lame de ras, o porțiune de 3 mm lungime, începînd de la vîrf;

— un alt coleoptil se lasă intact;

— unui alt coleoptil i se acoperă vîrful, pe o distanță de 3 mm, cu un capișon confecționat din staniol (care este opac față de lumină), prin mularea acestuia pe vîrful unui creion;

— un coleoptil se înfășoară în staniol pe toată lungimea lui, cu excepția porțiunii de la vîrf, care se lasă liber pe o distanță de 3 mm.

Se introduce ghiveciul, cu coleoptilele astfel pregătite, într-o cameră fototropică. Aceasta este confecționată dintr-o cutie de lemn, vopsită în negru pe partea interioară, care prezintă un orificiu lateral, prelungit la exterior cu un tub, prin care pătrunde lumina în interior. După circa 6 ore, sau a doua zi, scoțînd ghiveciul din camera fototropică, se va putea observa că dintre cele patru coleoptile s-au curbat spre direcția din care a pătruns lumina în camera fototropică, doar două: cel care a fost lăsat intact și cel al cărui vîrf a fost lăsat neacoperit cu staniol. Celelalte două coleoptile (cel decapitat și cel cu vîrful acoperit cu capișonul de staniol) au continuat să crească drept în sus (fig. 9.8). Experimentul dovedește

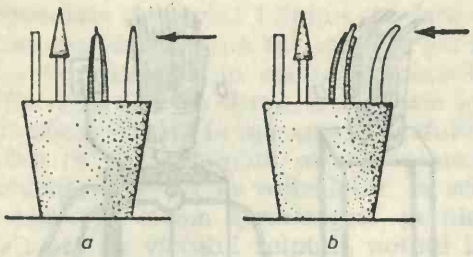


Fig. 9.8. Localizarea sediului perceperii luminii în declanşarea curburilor fototropice la coleoptile (după Brugovitzky):
a – aspectul iniţial al coleoptilelor; b – aspectul lor după 3 ore de la introducerea în camera fototropică (săgeţile indică direcţia din care vine lumina).

că sediul perceperii luminii, care declanşează curburile fototropice, se află în vîrful coleoptilelor, care se curbează spre direcţia din care vine lumina ca urmare a faptului că jumătatea suprafeţei lor, situată opus direcţiei din care vine lumina, creşte mai intens decît cea luminată.

9.3.1.2. Geotropismul

Prin geotropism se înţeleg mişcările de curbură ale organelor plantelor, determinate de acţiunea forţei de gravitaţie. Punerea în evidenţă a acestor mişcări şi reliefarea rolului forţei de gravitaţie în declanşarea lor, se face prin următoarele experimente:

a. Se fixează pe un dop de plută, cu ajutorul unor ace cu gămălie, două plantule de bob *(Vicia faba)* sau de porumb *(Zea mays)*, astfel ca una să fie cu rădăciniţa orientată vertical în jos şi tulpiniţa vertical în sus, iar cealaltă să fie cu aceste organe în poziţie orizontală. Se aşază dopul într-un cristalizor cu apă, se acoperă cu un clopot de sticlă, pentru a asigura plantulelor o atmosferă umedă, şi se lasă plantulele la întuneric. După 1—2 zile se va putea constata că la plantula care a fost aşezată cu organele axilare în poziţie orizontală, acestea au început să se curbeze, printr-o mişcare de creştere, rădăciniţa în jos, iar tulpiniţa în sus (fig. 9.9). Această mişcare, pozitiv ortogeotropă la rădăciniţă şi negativ ortogeotropă la tulpiniţă, se realizează sub efectul forţei de gravita-

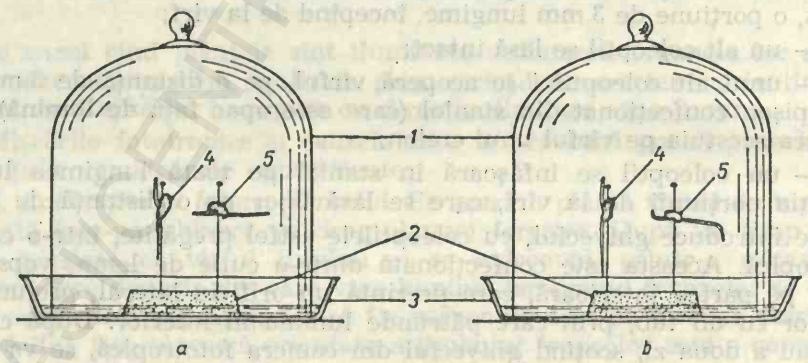


Fig. 9.9. Geotropismul rădăcinilor şi tulpinilor:
a – aspectul iniţial al plantulelor; b – aspectul lor după 24 ore. 1 – clopot de sticlă; 2 – dop de plută; 3 – cristalizor cu apă; 4 – plantulă aşezată cu organele axiale în poziţie normală; 5 – plantulă aşezată cu organele axiale în poziţie orizontală.

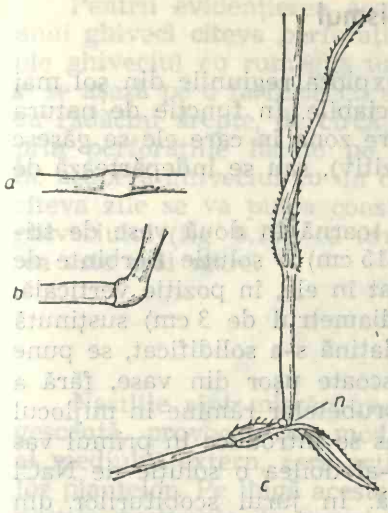


Fig. 9.10. Geotropismul tulpinilor de graminee (după Troll):
a — fragment de pai în poziție orizontală; b — același fragment după curbarea geotropică; c — o tulpină care s-a ridicat în poziție verticală, în urma curburii geotropice de la un nod (n).

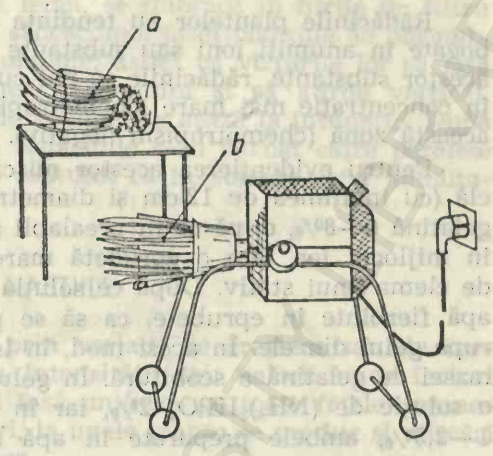


Fig. 9.11. Anularea efectului forței de gravitație cu ajutorul clinostatului:
a — plante martor; b — plante ținute pe clinostatul cu ax orizontal, care execută 5 rotații pe oră.

ție: fața dinspre pămînt a rădăciniței se alungește mai puțin decît partea opusă și, ca rezultat, vîrful ei se îndreaptă în jos; la tulpiniță are loc o creștere mai intensă a laturii sale dinspre pămînt și, ca urmare, vîrful ei se îndreaptă în sus.

b. În cazul cînd tulpinile de graminee, culcate de vînt sau de ploi, ajung în poziție orizontală, forța de gravitație stimulează creșterea din nou a părților situate înspre pămînt a nodurilor și în dreptul lor se produce o curbură, care readuce tulpinile plantelor în poziția verticală.

Pentru evidențierea acestor mișcări, se scot din pămînt și se sădesc într-un ghiveci graminee tinere, care au cîteva internoduri. Se udă bine pămîntul din ghiveci și apoi ghiveciul se așază în poziție orizontală. După 1—2 zile se va putea observa că în dreptul nodurilor s-au produs curburile geotropice (fig. 9.10). Internodiile nu participă la realizarea acestor mișcări de curbură.

c. Se pun la germinat, în două ghivece cu pămînt bine udat, cariopse de grîu și se lasă ghivecele la întuneric. După răsărirea plantelor se așază unul dintre ghivece în poziție orizontală (martor), iar celălalt se fixează pe un clinostat cu ax orizontal. Punînd în funcțiune clinostatul, după 2—3 zile, se va putea observa că plantele din ghiveciul așezat în poziție orizontală și-au îndreptat tulpinile în sus (fig. 9.11 a), în timp ce cele de pe clinostat au continuat să crească în direcție orizontală, fără să execute nici o mișcare de curbură (fig. 9.11 b), ca urmare a faptului că au fost supuse succesiv, prin mișcarea imprimată de clinostat, acțiunii forței de gravitație pe toate fețele lor, ceea ce a anulat acțiunea unidirecțională a forței de gravitație și declanșarea mișcării geotropice de curbură.

9.3.1.3. Chemotropismul

Rădăcinile plantelor au tendința de a explora regiunile din sol mai bogate în anumiți ioni sau substanțe nedisociabile. În funcție de natura acestor substanțe, rădăcinile se pot curba spre zona în care ele se găsesc în concentrație mai mare (chemotropism pozitiv), sau se îndepărtează de această zonă (chemotropism negativ).

Pentru evidențierea acestor mișcări, se toarnă în două vase de sticlă (cu înălțimea de 12 cm și diametrul de 15 cm) o soluție fierbinte de gelatină 6—8%, după ce în prealabil s-a fixat în ele, în poziție verticală, în mijlocul lor, cîte o eprubetă mare (cu diametrul de 3 cm) susținută de clema unui stativ. După ce soluția de gelatină s-a solidificat, se pune apă fierbinte în eprubete, ca să se poată scoate ușor din vase, fără a rupe gelul din ele. În acest mod, în locul eprubetelor rămîne în mijlocul masei de gelatină o scobitură. În golul rămas se introduce în primul vas o soluție de $(NH_4)_2HPO_4$ 2%, iar în cel de-al doilea o soluție de NaCl 1—2,5%, ambele preparate în apă distilată. În jurul scobiturilor din masa de gel se înfig rădăcinile a cîte 2 plantule de mazăre sau lupin, astfel ca ele să fie în poziție perfect verticală. Pentru ușurarea introducerii rădăcinilor în masa de gel, se pot face, în prealabil, în aceasta scobituri, cu ajutorul unei bucăți de sîrmă încălzită. După fixarea plantelor, se așază vasele într-un cristalizor cu apă, care se acoperă cu un clopot de sticlă, pentru a asigura plantelor o atmosferă umedă și se lasă la întuneric. După cîteva zile se va putea observa că sub influența fosfatului rădăcinile s-au curbat către scobitura centrală a vasului, din care difuzează substanța, manifestînd un chemotropism pozitiv (fig. 9.12 a), iar sub efectul clorurii de sodiu s-au îndreptat, prin creștere, spre peretele vasului (fig. 9.12 b), manifestînd un chemotropism negativ.

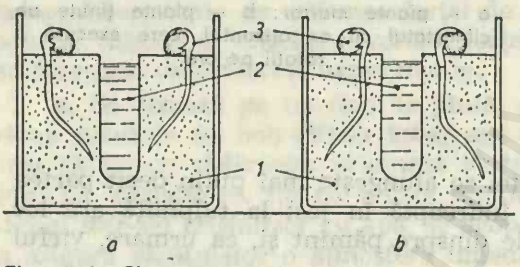


Fig. 9.12. Chemotropismul rădăcinilor de lupin (după Troll):
a — reacție pozitivă pentru fosfatul de amoniu; b — reacție negativă pentru clorura de sodiu; 1 — gelatină; 2 — soluția substanței de cercetat; 3 — plantule.

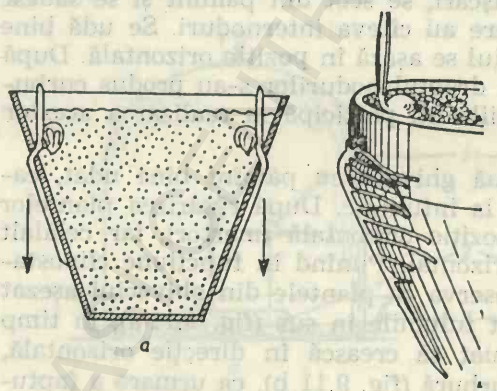


Fig. 9.13. Hidrotropismul rădăcinilor de porumb (după Troll și Mevius, modificat):
a— așezarea plantelor în ghiveci; b — rădăcinile, aflate în curs de creștere, se curbează spre peretele ghiveciului.

9.3.1.4. Hidrotropismul

Hidrotropismul constă în însușirea rădăcinilor plantelor de a se îndrepta, prin mișcări de curbură, spre regiunile din sol care sînt mai bogate în apă.

Pentru evidențierea acestor mișcări, se fac în partea superioară a unui ghiveci cîteva perforații cu diametrul de 0,5 cm, după care se umple ghiveciul cu rumeguș umed de lemn, se îmbracă în hîrtie de filtru și se așază pe o farfurie cu apă. Se sădesc apoi în el plantule de porumb, cu rădăcini drepte, de circa 2 cm lungime, astfel ca vîrfurile lor să iasă prin perforațiile făcute pe marginea ghiveciului și să atîrne vertical. Se acoperă ghiveciul cu un clopot de sticlă și se așază la întuneric. După cîteva zile se va putea constata că rădăcinile s-au curbat către peretele ghiveciului (fig. 9.13), ca urmare a faptului că în această zonă umiditatea este mai mare.

9.3.2. NASTIILE

Nastiile sînt mișcări realizate prin variații de creștere sau de turgescență, provocate de modificarea intensității sau valorii unor factori ai mediului extern, care acționează însă uniform pe toate fețele organelor plantelor. Pe lîngă aceste mișcări, la unele plante se produc și mișcări nastice provocate de șocuri mecanice.

9.3.2.1. Termonastiile

Mișcările termonastice se datoresc variațiilor de temperatură ale mediului înconjurător. Ele se pot pune în evidență, cu ușurință, la florile de lalea. Dacă se ia o floare închisă și se introduce într-un vas cu apă la temperatura de 25—30°C, se va constata că ea se va deschide într-un interval de timp de 5—10 minute. Dacă se trece apoi această floare într-un vas cu apă rece (la temperatura de 5—8°C), ea se va închide. Aceste mișcări se datoresc unor variații de creștere. Piesele învelișurilor florale cresc mai repede pe fața internă în cazul cînd condițiile favorizează deschiderea florilor, iar la închidere cresc mai intens pe fața lor externă.

9.3.2.2. Fotonastiile

Mișcări nastice datorite modificării intensității luminii se pot observa la inflorescențele de *Bellis perennis* și *Taraxacum*. Dacă se cultivă aceste plante în ghivece și se țin la lumină, se va constata că inflorescențele lor se deschid. Dacă se trec ghivecele la întuneric, inflorescențele lor se închid. Aceste mișcări se realizează, ca și cele termonastice, prin variații de creștere.

9.3.2.3. Nictinastiile

Nictinastiile se observă la florile și frunzele unor plante și sînt provocate de alternanța zi-noapte. Întrucît această alternanță provoacă variații diurne ale intensității luminii, de la valoarea maximă ziua pînă la

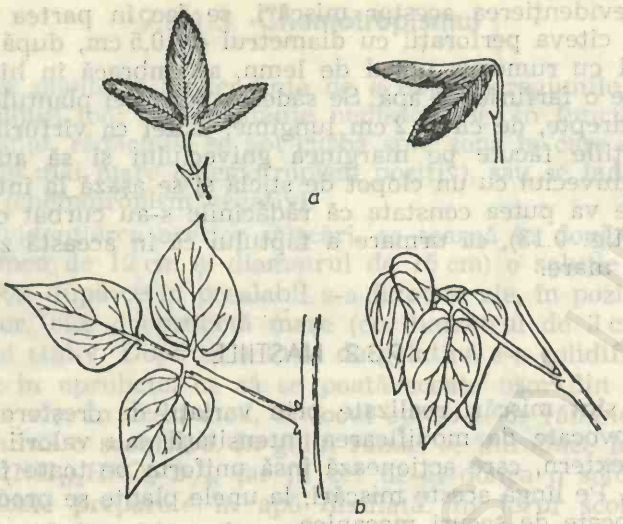


Fig. 9.14. Mişcări nictinastice la frunze:
a – poziția frunzelor în timpul zilei (în stînga) și al nopții (în dreapta) la trifoi (după Belzung); b – poziția de zi (în stînga) și de noapte (în dreapta) la frunzele de **Phaseolus multiflorus** (după Kolkwitz).

cele minime noaptea și variații în același sens ale temperaturii, este foarte greu de decelat dacă aceste mișcări se execută ca rezultat al variațiilor intensității luminii, sau ale temperaturii. La unele plante, în realizarea acestor mișcări predomină termonastia, iar la altele fotonastia. În afară de flori, dintre care unele se deschid dimineața și se închid seara *(Tulipa, Crocus)*, iar altele se deschid doar în timpul nopții *(Nicotiana alata, Mirabilis jalapa)*, aceste mișcări sînt caracteristice și pentru frunzele diferitelor specii de plante.

La trifoi, odată cu lăsarea întunericului, cele două foliole laterale se apropie una de alta cu fața superioară a limbului, iar foliola terminală se apleacă peste ele (fig. 9.14 a). La fasole foliolele se apropie, seara, între ele cu fața inferioară a limbului (fig. 9.14 b). La *Mimosa pudica*, odată cu lăsarea serii foliolele frunzelor se apropie între ele, cu fața superioară, peţiolurile principale se apleacă, iar cele secundare se apropie între ele (fig. 9.15 b).

9.3.2.4. Seismonastiile

Mișcările seismonastice sînt provocate, la unele plante, de șocuri mecanice. Ele se manifestă la *Mimosa pudica*, *Oxalis acetosella* și la *Berberis vulgaris*. Aceste mișcări pot fi puse în evidență în modul următor:

a. La *Mimosa pudica*, dacă se zguduie ghiveciul cu planta, ținută pînă atunci sub un clopot de sticlă, se va constata că după excitație peţiolurile principale ale frunzelor se apleacă brusc, cele secundare se

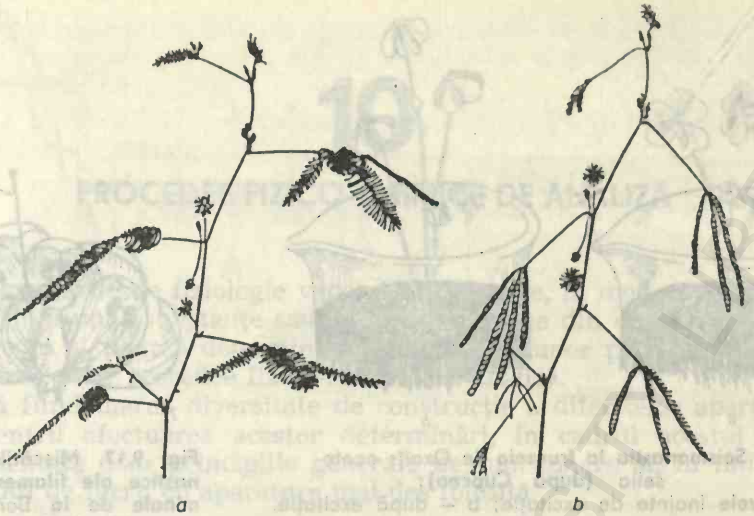


Fig. 9.15. Mişcările seismonastice la Mimosa pudica **(după Moisescu):**
a – planta neexcitată; b – planta după excitaţie.

apleacă şi ele şi se apropie între ele, iar foliolele se ridică în sus şi se alipesc cu feţele lor superioare, planta luînd poziţia caracteristică pe care o are în timpul nopţii (fig. 9.15 b). După un interval de timp de 10—15 minute, planta revine la poziţia normală, pe care o are în timpul zilei (fig. 9.15 a).

Planta reacţionează şi la excitaţii de intensităţi mai mici, mişcarea producîndu-se în funcţie de intensitatea excitaţiei. În cazul cînd se atinge uşor o foliolă, excitaţia se transmite şi la foliola opusă, astfel încît ele se alipesc prin feţele lor superioare; dacă excitaţia este mai puternică, ea se transmite şi la cîteva foliole vecine, atît spre vîrful cît şi spre baza peţiolului secundar respectiv. În cazul cînd se intervine cu un excitant puternic, pîrlind o foliolă cu ajutorul flăcării unui chibrit, excitaţia se transmite pe rînd celorlalte foliole, peţiolurilor secundare şi peţiolului principal al frunzei, iar de aici, prin tulpină, la frunzele situate deasupra şi sub frunza a cărei foliolă a fost supusă agentului termic.

Aceste mişcări seismonastice se produc prin variaţii de turgescenţă, la nivelul pulvinulelor existente la baza peţiolurilor principale, peţiolurilor secundare şi a celor de la baza foliolelor.

b. La *Oxalis acetosella,* prin lovirea plantei, frunzele îşi schimbă poziţia. Pentru evidenţierea acestei mişcări, se sădesc cîteva plante în ghivece sau pahare Berzelius, umplute cu pămînt şi se păstrează la lumină difuză. În aceste condiţii foliolele plantelor sînt aşezate în acelaşi plan. Dacă se loveşte de mai multe ori, cu un băţ, o plantă în porţiunea de la baza foliolelor, unde sînt situate pulvinulele, se va constata că foliolele ei se îndoaie pe nervura mediană şi se apleacă (fig. 9.16).

c. La *Berberis vulgaris* (dracilă) mişcări seismonastice se produc la nivelul staminelor. Pentru evidenţierea acestor mişcări este suficient să se atingă cu un ac partea internă de la baza filamentului staminal. Se va constata că stamina efectuează instantaneu o mişcare seismonastică spre

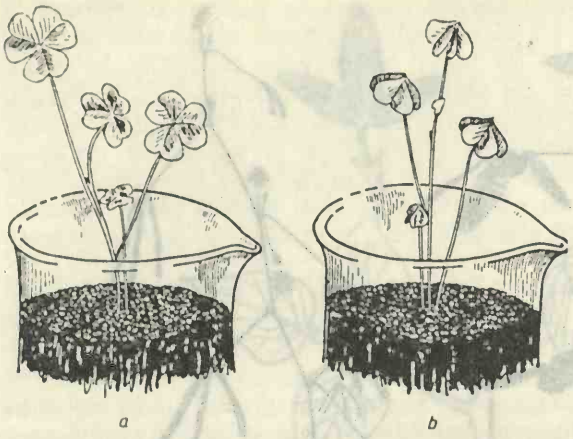


Fig. 9.16. Seismonastia la frunzele de Oxalis acetosella **(după Cupcea):**
a – frunzele înainte de excitație; b – după excitație.

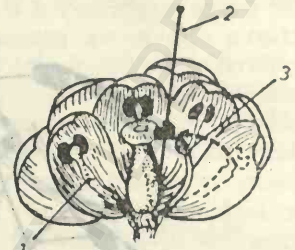


Fig. 9.17. Mișcările seismonastice ale filamentelor staminale de la Berberis vulgaris **(după Brauner – Bukatsch):**
1 – stamină în poziție normală; 2 – ac; 3 – filamentul staminei după excitație.

centrul florii, antera aplicîndu-se pe stigmat (fig. 9.17). Aceste mișcări, care favorizează polenizarea, întrucît sînt provocate de insectele care, căutînd nectarul, ating zona sensibilă de la baza filamentelor staminale, se pot provoca și prin zguduirea florilor, ceea ce în condițiile naturale se întîmplă în cazul cînd bate vîntul.

10

PROCEDEE FIZICO-CHIMICE DE ANALIZĂ

În cercetările de fiziologie vegetală se recurge, în mod curent, pentru determinarea unor substanțe sau elemente chimice din organismele vegetale, precum și pentru determinarea intensității unor procese fiziologice, la utilizarea unor procedee fizico-chimice de analiză.

Dată fiind marea diversitate de construcție a diferitelor aparate utilizate pentru efectuarea acestor determinări, în cadrul acestui capitol sînt prezentate doar principiile generale de funcționare și, în linii generale, modul de lucru cu aparatura mai des folosită.

10.1. DETERMINAREA *p*H-ului

Determinările de *p*H se efectuează, în majoritatea cazurilor, prin procedee potențiometrice, care permit măsurarea tensiunii electromotoare a unei celule electrochimice, compusă dintr-un electrod de măsură (indicator al concentrației ionilor de hidroniu) și un electrod de referință, ce se introduc în soluția de cercetat.

Curenții foarte slabi, care străbat celula electrochimică, sînt amplificați de diverse tipuri de aparate cu tuburi electronice, numite *p*H-metre. Cele prevăzute cu deviație sau cu citire directă permit determinarea directă a forței electromotoare a celulei electrochimice și deci a *p*H-ului, prin citirea deviațiilor indicatorului unui instrument de măsură etalonat în unități de *p*H, sau în milivolți. În prezent se construiesc *p*H-metre prevăzute cu tuburi Nixie, care permit afișarea pe un ecran a valorilor de *p*H.

Există numeroase tipuri de *p*H-metre, dar, în toate cazurile, în mînuirea lor trebuie ținut cont de următoarele măsuri:

— aparatul și electrozii să se afle la aceeași temperatură;

— soluțiile etalon și soluțiile de măsurat să fie păstrate la aceeași temperatură;

— înainte de introducerea electrozilor în soluția tampon etalon sau în soluția de cercetat, ei se spală cu apă distilată și se usucă apoi prin tamponare ușoară cu hîrtie de filtru;

— în manipularea electrozilor se impune multă atenție, evitind atingerea lor de pereții vasului cu soluția.

Modul de lucru cu *p*H-metrul digital românesc cu afișaj „*p*H — 100".

Pentru determinarea *p*H-ului cu acest aparat, reprezentat în figurile 10.1 și 10.2, se efectuează următoarele operații:

— se introduce aparatul în priză;

— se scurtcircuitează mufa de „MĂSURĂ" (12) cu borna de referință „REF" (13);

— se pornește aparatul de la „REȚEA" (1) și se așteaptă circa 10 minute pentru intrarea lui în regim, în cazul cînd acesta se află de cel

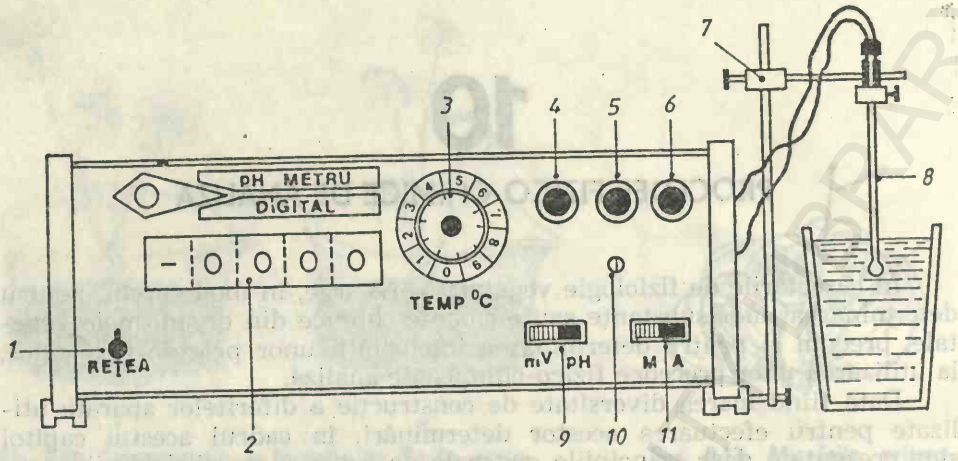


Fig. 10.1. pH – metrul digital „pH – 100" văzut din față:

1 – întrerupător rețea; 2 – ecran din plexiglass roșu pentru tuburile Nixie; 3 – potențiometru multitur cu afișare TEMP.°C; 4 – potențiometru multitur PANTA; 5 – potențiometru multitur ZERO *p*H; 6 – potențiometru multitur CALIBRARE; 7 – stativ pentru electrozi; 8 – electrod; 9 – comutator cu alunecare mV – *p*H; *10* – potențiometru ZERO mV; 11 – comutator cu alunecare M–A.

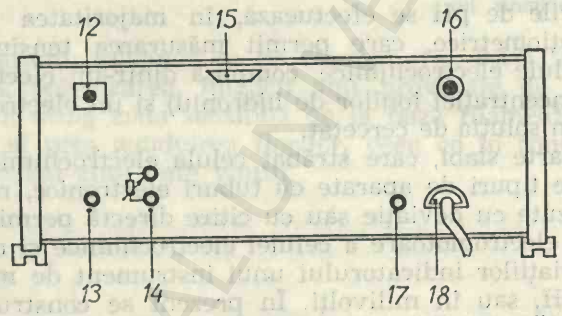


Fig. 10.2. pH – metrul digital „pH –100" văzut din spate:

12 – mufa pentru electrodul de măsură; 13 – borna pentru electrodul de referință: REF; 14 – borne pentru termorezistența Pt – 100; 15 – conector 25 contacte pentru ieșirea cod binar-zecimal; 16 – siguranță 0,25 A/250 V; 17 – borna de împământare a aparatului; 18 – cablul de alimentare de la rețea.

puțin două ore în camera în care se fac măsurătorile, sau 30 de minute în cazul cînd aparatul este adus din altă încăpere;

— se reglează, cu o șurubelniță, potențiometrul „ZERO mv" (10) pînă cînd aparatul indică 0000 cu plus sau minus;

— se pune pe „*p*H" comutatorul „mv — *p*H" (9);

— se pune pe M (manual) comutatorul „M — A" (11) cînd temperatura soluțiilor se măsoară cu termometrul, iar potențiometrul „TEMP. °C" (3) se aduce la valoarea citită pe termometru și pe A (automat) cînd se utilizează termorezistența „Pt — 100" (14), care se introduce în soluții pentru a lua temperatura lor;

— se rotește complet, în sensul invers acelor de ceasornic, potențiometrul „CALIBRARE" (6);

— se cuplează electrozii la aparat (electrodul de măsură la mufa 12, iar cel de referință la borna 13) și se introduc într-o soluție etalon cu *p*H=6,8 (reactivul nr. 37);

— se reglează din potențiometrul „ZERO *p*H" (5) pînă cînd se afișează pe ecran indicația 0000;

— se reglează din potențiometrul „CALIBRARE" (6) pînă cînd se afișează indicația 6,8 *p*H; dacă punctul de zero al electrozilor este de 4,0 calibrarea se va face la fel, dar cu ajutorul unei soluții tampon etalon cu *p*H=4,0 (reactivul nr. 36);

— se introduc electrozii (după spălare și uscare) într-o soluție etalon cu *p*H=1,6 (reactivul nr. 35) și se reglează din potențiometrul „PANTA" (4) pînă cînd se afișează pe ecran indicația 1,6 *p*H.

Aparatul astfel reglat este gata pentru efectuarea măsurătorilor. Electrozii, spălați și uscați, se introduc în soluția de analizat și se citește valoarea *p*H-ului ei pe ecran.

Modul de lucru descris este valabil pentru situația cînd soluția cu *p*H-ul necunoscut are aceeași temperatură cu soluțiile tampon utilizate la calibrarea aparatului, adică circa 20°C (temperatura obișnuită a unui laborator), iar potențiometrul „TEMP. °C" (3) este fixat pe 20°C și comutatorul „M—A" (9) este pe M. Dacă se lucrează pe A, termorezistența „Pt — 100" (14) se introduce în soluții odată cu electrozii. În acest caz poziția potențiometrului „TEMP. °C" (3) este indiferentă.

Cînd soluția de cercetat are altă temperatură, se procedează astfel:

— se rotește complet, în sens invers acelor de ceasornic, potențiometrul „CALIBRARE" (6);

— se introduc electrozii într-o soluție tampon etalon cu *p*H-ul izoterm cu electrozii;

— se fixează potențiometrul „TEMP. °C" (3) la valoarea temperaturii arătate de termometrul introdus în soluție, comutatorul „M — A" (11) fiind pe M; dacă se lucrează cu termorezistența „Pt — 100" (14), comutatorul „M — A" (11) se pune pe A, iar poziția potențiometrului „TEMP. °C" (3) devine indiferentă;

— se manevrează potențiometrul „ZERO *p*H" (5) pînă cînd se afișează indicația 0000;

— se manevrează potențiometrul „CALIBRARE" (6) pînă cînd se afișează valoarea *p*H-ului izoterm;

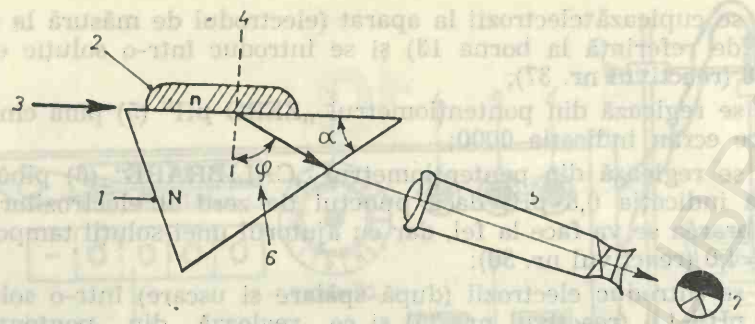
— se introduc electrozii în soluție tampon cu *p*H=1,6 (soluția poate fi la 20°C și, în cazul cînd se lucrează pe M, se efectuează corecția de temperatură cu potențiometrul „TEMP. °C");

— se manevrează potențiometrul „PANTA" (4) pînă se afișează valoarea 1,6 *p*H.

După efectuarea acestor operații de reglaj, aparatul este gata pentru măsurători.

Trebuie ținut cont de timpul de răspuns al electrozilor (cel al aparatului este mult mai mic, de 0,1 secunde), care este funcție de tipul electrodului și de domeniul în care lucrează: în domeniile acide timpul de răspuns este mai scurt decît în cele bazice.

Este bine ca aparatul să fie legat de pămînt. Legătura la centura de împămîntare se face prin borna de împămîntare a aparatului (17).



Figg. 10.3. Schema unui refractometru bazat pe măsurarea unghiului limită:
1 – prisma de măsurare (N); 2 – substanța de cercetat (n); raza incidentă (r); 4 – normala (n_1); 5 – luneta; 6 – unghiul limită (φ); 7 – cîmpul lunetei la atingerea unghiului limită.

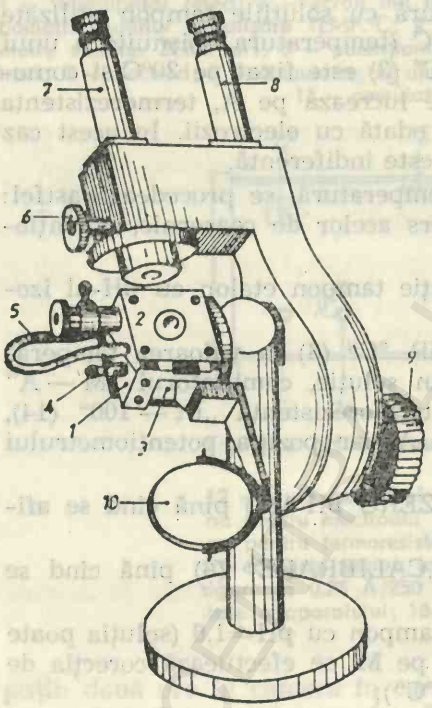


Fig. 10.4. Refractometrul Abbe în poziție de lucru:
1 – prisma de iluminare; 2 – prisma de măsurare; 3 – fereastra prismei de iluminare; 4 – olivă pentru racordare la ultratermostat; 5 – tub de cauciuc care unește două olive; 6 – butonul compensatorului de dispersie; 7 – luneta; 8 – lupă; 9 – butonul de mișcare a blocului de prisme; 10 – oglindă.

10.2. DETERMINAREA CONCENTRAȚIEI SOLUȚIILOR PE CALE REFRACTOMETRICĂ

Refractometria reprezintă un procedeu de determinare a concentrației soluțiilor pe baza măsurării indicilor lor de refracție.

Pentru determinări se poate folosi un refractometru Abbe, care posedă o prismă de măsurare, din sticlă, cu indice de refracție cunoscut N, mai mare decît indicele de refracție al subtanțelor de cercetat. Cu cît N este mai mare, cu atît limita de măsurare este mai ridicată. Limita inferioară de măsurare depinde de unghiul α și de dimensiunile prismei. După cum rezultă din schema de funcționare (fig. 10.3), substanța (n), al cărei indice de refracție trebuie determinat, se așază pe prismă și se iluminează cu un fascicul de raze (r) perpendicular pe normală (n_1). Lumina, refractîndu-se, traversează prisma și, privind cu o lunetă (1) de cealaltă parte a prismei, în momentul în care se atinge unghiul limită (φ), cîmpul lunetei apare pe jumătate întunecat și pe jumătate luminat. Printr-o lupă se citește indicele de refracție al substanței cercetate, sau, pe o scală alăturată, procentele de zaharoză, fapt ce permite exprimarea concentrației substanței direct în procente de zaharoză.

Refractometrul Abbe (fig. 10.4 și 10.5) posedă pe lîngă prisma de mă-

surare (2) și o prismă de iluminare (1), care alcătuiesc împreună blocul de prisme. Picătura de soluție de cercetat se pune între fețele ipotenuze ale celor două prisme, într-un strat de circa 0,1—0,2 mm. Lumina pătrunde prin fereastra prismei de iluminare (3), trece prin lichid și se refractă la limita dintre prisma de iluminare și cea de măsurare, după care ajunge în lunetă (7). Blocul de prisme se rotește cu ajutorul butonului alidadei (9), pînă ce limita de separație între cîmpul luminos și cel întunecos se aduce la încrucișarea reticulului (fig. 10.6). Mecanismul de rotire a blocului de prisme (alidada) este solidar cu scalele gradate în valori ale indicelui de refracție și ale concentrației procentuale de zaharoză.

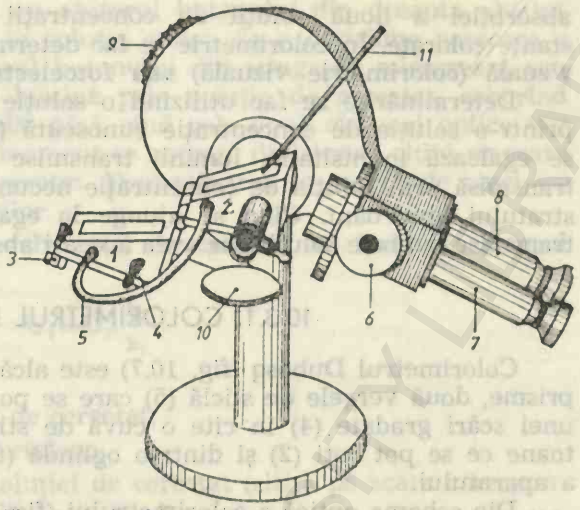


Fig. 10.5. Poziția „peste cap" a refractometrului Abbe pentru depunerea lichidului de cercetat pe prisma de măsurare:

1 — prisma de iluminare; 2 — prisma de măsurare; 3 — butonul zăvorului de blocare și deblocare a prismelor; 4 — olivă; 5 — tub de cauciuc care unește două olive; 6 — butonul compensatorului de dispersie; 7 — lunetă; 8 — lupă; 9 — butonul de mișcare a blocului de prisme; 10 oglindă; 11 — pipetă.

Modul de lucru. Refractometrul, așezat în fața unei surse de lumină, se dă „peste cap" (fig. 10.5), printr-o mișcare de înapoi-înainte, pînă la refuz. Se deschide blocul de prisme prin rotirea butonului de la zăvor (3) și se dă „peste cap" prisma de iluminare (1). Se pun picăturile de soluție de analizat, într-un strat continuu, pe prisma de măsurare (2), cu o pipetă, se închide blocul de prisme și se readuce refractometrul în poziție de lucru (fig. 10.4). Dacă limita de separare între cele două cîmpuri ce apar în lunetă este difuză, se manevrează compensatorul de dispersie (6) pînă ce aceasta devine clară, după care, mișcînd butonul alidadei (9), se aduce limita dintre cîmpuri exact la încrucișarea reticulului (fig. 10.6). Privind acum prin lupă (8) se citesc pe scale valorile care interesează (indicele de refracție sau procentul de zaharoză). Pe scala indicilor de refracție cea mai mică diviziune are valoarea 0,001, dar se poate aproxima și a patra zecimală. Concentrația soluției se stabilește interpolînd valoarea obținută pentru indicele ei de refracție între valorile stabilite într-o scară etalon. De obicei, însă, concentrația ei se exprimă în procente de zaharoză, citite direct pe scală.

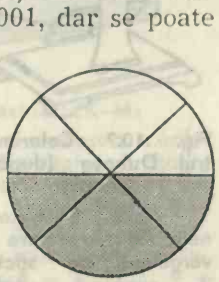


Fig. 10.6. Cîmpul lunetei la citirea rezultatului.

10.3. PROCEDEE COLORIMETRICE

Procedeele colorimetrice permit determinarea concentrației unor soluții colorate, prin compararea

absorbției a două soluții de concentrații diferite ale aceleiași substanțe colorate. În colorimetrie se fac determinări prin comparări pe cale vizuală (colorimetrie vizuală) sau fotoelectrică (fotocolorimetrie).

Determinările se fac utilizînd o soluție de comparație, reprezentată printr-o soluție de concentrație cunoscută (C_2) a substanței de dozat și se egalează intensitatea luminii transmise prin această soluție cu cea transmisă prin soluția de concentrație necunoscută (C_1), variind grosimea stratului absorbant. Cînd se ajunge la egalizarea intensității luminilor transmise, ambele soluții vor avea aceeași absorbanță.

10.3.1. COLORIMETRUL DUBOSQ

Colorimetrul Dubosq (fig. 10.7) este alcătuit dintr-un ocular (1), două prisme, două vergele de sticlă (5) care se pot ridica și coborî de-a lungul unei scări gradate (4) în cîte o cuvă de sticlă (3) cu ajutorul unor butoane ce se pot roti (2) și dintr-o oglindă (6), aflată la partea inferioară a aparatului.

Din schema optică a colorimetrului (fig. 10.8) rezultă că de la oglinda *1* pleacă o rază de lumină ce trece prin stratul de soluție de cercetat, care se află în cuva *9* din partea stîngă a aparatului, apoi prin vergeaua *2*, prisma *3*, lentila *4* și pătrunde în ocularul *5*, luminînd jumătatea din dreapta a acestuia. O altă rază de lumină trece prin stratul de soluție etalon din cuva *8* din partea dreaptă, apoi prin vergeaua *6*, prisma *7*, lentila *4* și pătrunde în ocular, luminînd jumătatea din stînga a cîmpului optic.

Modul de lucru. Înainte de a turna soluțiile în cuve, se potrivește oglinda astfel ca ambele jumătăți ale cîmpului optic să fie iluminate egal. Se face apoi verificarea aparatului, turnînd soluție etalon în ambele cuve, care se umplu pînă la semn, astfel ca la coborîrea vergelelor soluția să nu se verse din ele. Se coboară vergelele de sticlă în soluții, avînd grijă ca pe suprafața lor să nu rămînă bule de aer (care, în cazul cînd apar, se îndepărtează prin înclinarea cu atenție a aparatului) și se fixează cu ajutorul butoanelor la aceeași înălțime a scării gradate. Privind prin ocular, ambele cîmpuri optice trebuie să fie la fel de intens luminate.

După verificarea aparatului, se spală cu puțină soluție de cercetat cuva din stînga și apoi se umple cuva cu această solu-

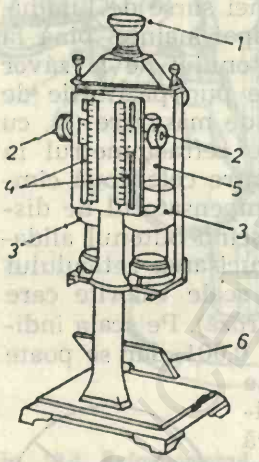


Fig. 10.7 Colorimetrul Dubosq (după Ivanov):
1 – ocular; 2 –butoanele de manevrare a vergelelor de sticlă; 3 – cuvă; 4 – scări gradate; 5 – vergea de sticlă; 6 – oglindă.

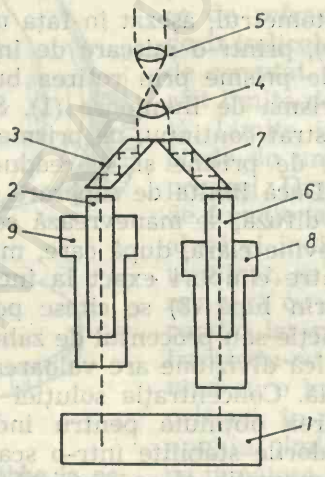


Fig. 10.8. Schema optică a colorimetrului Dubosq (după Bănățeanu și colaboratorii):
1 – oglindă; 2 – vergea de sticlă; 3 – prismă; 4 – lentilă; 5 – ocular; 6 – vergea de sticlă; 7 – prismă; 8 – cuvă; 9 – cuvă.

ție pînă la semn. Se fixează cu ajutorul butonului din dreapta nivelul vergelei de sticlă, care intră în soluția etalon, la o diviziune oarecare a scării (20 sau 30) și cu ajutorul butonului din stînga se micșorează sau se mărește drumul razei de lumină prin soluția de cercetat, coborînd sau ridicînd vergeaua de sticlă, pînă cînd cele două cîmpuri optice vor avea aceeași culoare. În acest moment se notează diviziunea citită pe scara corespunzătoare soluției de cercetat. Determinarea se repetă de cinci ori și se ia ca rezultat media citirilor.

Calcularea concentrației substanței de cercetat se face cu ajutorul relației:

$$C_1 = C_2 \cdot \frac{h_2}{h_1},$$

în care:

C_1 = concentrația soluției de cercetat;

C_2 = concentrația soluției etalon;

h_1 = înălțimea coloanei soluției de cercetat (citită pe scara corespunzătoare a aparatului);

h_2 = înălțimea coloanei soluției etalon (citită pe scara corespunzătoare a aparatului).

10.3.2. COLORIMETRUL FOTOELECTRIC FEK-M

În cazul fotoelectrocolorimetriei, fasciculul de lumină care traversează cuva cu soluția destinată analizei sau cea cu solventul utilizat, ajunge pe fotoelement, care transformă energia luminoasă în energie electrică (fotocurent). Deoarece intensitatea curentului fotoelectric este direct proporțională cu intensitatea luminii, orice soluție colorată, așezată între sursa de lumină și fotoelement, va influența intensitatea curentului. Deci, cu cît soluția va fi mai concentrată, cu atît ea va absorbi mai intens radiațiile luminoase și, ca atare, curentul format în fotoelement va fi mai slab.

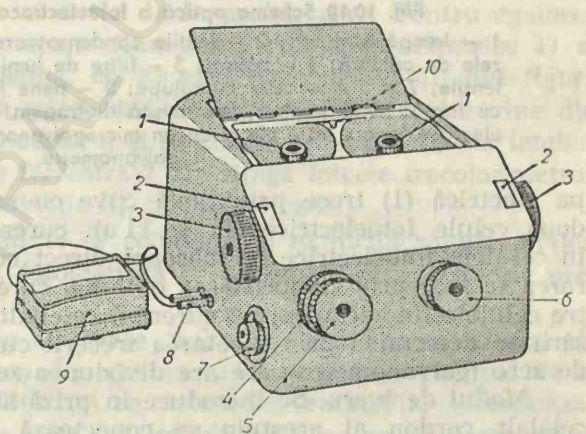


Fig. 10.9. Colorimetrul fotoelectric FEK–M:
1 – suport rotativ pentru cuve; 2 – fereastra scărilor gradate; 3 – tambur care mișcă diafragma și scările gradate; 4 – tamburul penei pentru aducerea la zero a acului microgalvanometrului (reglaj brut); 5 – tamburul penei pentru reglajul fin al acului microgalvanometrului; 6 – tambur pentru schimbarea filtrelor; 7 – comutator pornire-oprire; 8 – banane; 9 – microgalvanometru; 10 – bară pentru mișcarea, la nevoie, a unui ecran metalic pentru oprirea fasciculelor luminoase.

Părțile componente ale colorimetrului fotoelectric FEK-M, sînt redate în figura 10.9.

Din schema optică a aparatului (fig. 10.10), se vede că lumina de la lam-

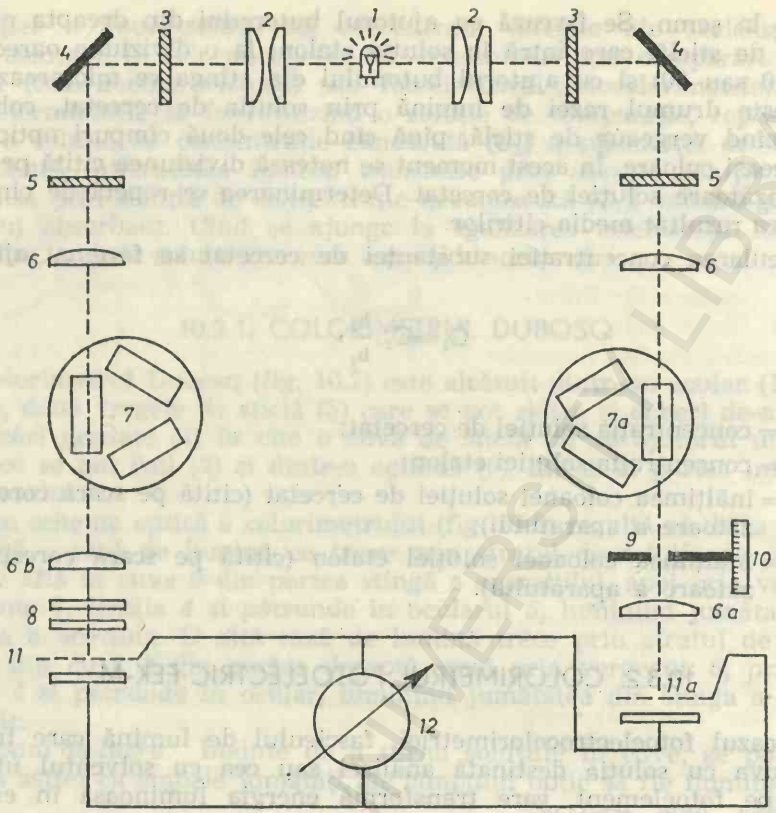


Fig. 10.10 Schema optică a fotoelectrocolorimetrului FEK–M:

1 – lampă electrică; 2 – lentile condensatoare; 3 – filtre care reţin razele de căldură; 4 – oglinzi; 5 – filtre de lumină; 6 lentile; 6 a şi 6 b – lentile; 7 şi 7 a – cuve cu soluţie; 8 – pene fotometrice; 9 – diafragmă cu fantă; 10 – tambur care mişcă diafragma; 11 şi 11 a – celule fotoelectrice legate între ele şi cu un microgalvanometru de zero; 12 – microgalvanometru.

pa electrică (1) trece prin două cuve cu soluţii (7 şi 7 a) şi cade pe două celule fotoelectrice (11 şi 11 a): curentul electric care ia naştere în celulele fotoelectrice se măsoară direct cu galvanometrul (12). Măsurarea se face prin compensarea optică a curentului electric al uneia dintre celulele fotoelectrice, cu curentul celeilalte celule: momentul compensării se determină prin încetarea trecerii curentului prin galvanometrul de zero (galvanometru care are diviziunea zero la mijlocul scalei).

Modul de lucru. Se introduce în priză stabilizatorul de tensiune, iar celălalt cordon al acestuia se conectează la fotoelectrocolorimetru, în partea lui dreaptă, privit din faţă. Galvanometrul se conectează la partea stîngă a fotoelectrocolorimetrului. Se pune aparatul sub tensiune, se aşază întrerupătorul galvanometrului pe poziţia „deschis" şi se aduce acul galvanometrului la zero. Dacă aducerea la zero a acului galvanometrului se realizează prin învîrtirea în sens invers a tamburului de reglaj, se inversează bornele galvanometrului, după care se readuce acul lui la zero. Se lasă aparatul deschis (în regim de lucru) timp de 15 minute, după care se controlează dacă acul galvanometrului a rămas la diviziunea zero şi la nevoie se readuce din nou la această diviziune.

TABELUL 10.1

Caracteristicile filtrelor de la fotoelectrocolorimetrul FEK-M

Indicativul filtrului	Culoarea filtrului	Lungimea de undă (nm)
KC-14	Roşie	670
ZC-1	Verde	530
CC-8	Albastră	450

După intrarea aparatului în regim de lucru, se fixează filtrul indicat, în dependenţă de maximul de absorbţie al soluţiei colorate (eventual prin consultarea datelor din tabelul 10.1), prin învîrtirea tamburului 6 din figura 10.9. Dacă în protocolul determinării nu este indicat filtrul, acesta se mai poate alege după intensitatea deviaţiei acului galvanometrului faţă de soluţia de analizat: filtrul în care deviaţia este cea mai mare, este cel mai indicat. După aşezarea filtrului corespunzător, se introduce în ambele cuve proba oarbă (martorul), adică o soluţie care conţine toţi reactivii folosiţi în analiză, în proporţiile respective, cu excepţia celui care produce coloraţia şi se închide diafragma 9 (din figura 10.10) prin rotirea tamburului 10 din figura 10.10 sau 3 din figura 10.9, pînă cînd scala gradată în roşu, din partea stîngă a fotoelectrocolorimetrului, ajunge la diviziunea 0,00. Se deschide apoi comutatorul 7 din figura 10.9 şi, rotind uşor tamburul 4 (dacă este cazul şi tamburul 5), se aduce acul galvanometrului la zero. Se închide comutatorul şi se înlocuieşte cuva din dreapta (cuva 7 a din figura 10.10) cu o cuvă cu soluţia colorată de cercetat. Pentru înlocuirea mai rapidă a cuvelor, acestea se aşază pe suportul rotativ 1 din figura 10.9. După înlocuirea cuvei, se deschide din nou comutatorul. Celula fotoelectrică 11 a din figura 10.10, va produce acum un curent electric de intensitate mai mică decît celula fotoelectrică 11 şi acul galvanometrului va devia de la poziţia zero. Pentru egalarea curenţilor fotoelectrici, se măreşte iluminarea celulei fotoelectrice 11 a, deschizînd mai mult diafragma, cu ajutorul tamburului 10 din figura 10.10 sau 3 din figura 10.9, pînă cînd acul galvanometrului revine din nou la zero. Se închide comutatorul şi se citeşte pe scala roşie a tamburului 3 din figura 10.9, prin fereastra 2 din stînga fotoelectrocolorimetrului, numărul diviziunilor (extincţia E), care se notează.

Valoarea extincţiei obţinute se compară cu extincţia soluţiei etalon (cu concentraţia cunoscută), fotometrată în condiţii identice cu cele prezentate anterior.

În cazul în care trebuie efectuate multe determinări, se recomandă construirea unei curbe etalon. În acest scop se pregătesc, pornind de la soluţia etalon mumă, 10 diluţii şi se determină extincţiile corespunzătoare concentraţiilor lor. Pe baza datelor obţinute, se construieşte curba de etalonare, notînd pe ordonată extincţiile (E), iar pe abscisă concentraţiile (în mg%). În cazul cînd se lucrează cu mare atenţie şi exactitate, punctele determinate se situează pe o dreaptă ce trece prin originea axelor; curba etalon se consideră reuşită dacă este determinată măcar de cinci puncte (fig. 10.11). Concentraţiile probelor de analizat se află extrapolînd valorile extincţiilor citite, pe curba de etalonare: perpendiculara, lăsată din punctul de pe curba etalon corespunzător extincţiei, indică mărimea concentraţiei substanţei cercetate.

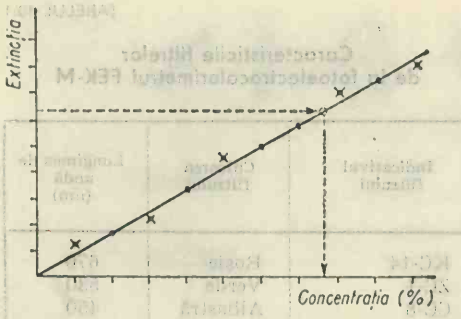


Fig. 10.11. Trasarea curbei de etalonare: ea este determinată, în primul rînd, de cele 5 puncte (.) prin care trece dreapta, dar și de cele 5 puncte (x) care se află la distanțe aproximativ egale de o parte și de cealaltă a dreptei liniile punctate arată modul în care se citește pe grafic concentrația substanței de cercetat.

In cazul cînd numărul determinărilor ce trebuie efectuate este mic, se face fotometrarea soluției etalon, cu concentrația cunoscută (în mg%) și se obține extincția corespunzătoare (E soluției etalon), după care se fotometrează, exact în aceleași condiții, soluția de cercetat și se înregistrează extincția ei (E soluției cercetate). Cunoscînd aceste valori, se află concentrația probei de analizat (x) cu ajutorul relației:

$$x = \frac{\text{E soluției cercetate} \cdot \text{mg \%}}{\text{E soluției etalon}},$$

în care mg % exprimă concentrația soluției etalon (numărul de mg de substanță dizolvată în 100 g de solvent).

În calculele ce vor fi efectuate, se va ține seama de volumul soluției colorate ce a fost supusă determinării, deoarece în cazul dozării unei substanțe, aceasta se extrage dintr-o cantitate determinată de material vegetal, fiind trecută într-un anumit număr de mililitri de solvent, din care se utilizează la fotometrare o cantitate mică.

10.4. TEHNICI SPECTROFOTOMETRICE

Cu ajutorul acestor tehnici se poate studia absorbția radiațiilor electromagnetice de către moleculele aflate în soluție, fapt ce permite determinarea concentrației și a spectrului de absorbție a diferitelor substanțe extrase din materialele vegetale.

10.4.1. SPECTROFOTOMETRUL SPEKOL 10

Din schema de funcționare a acestui spectrofotometru (fig. 10.12) rezultă că din lumina emisă de o lampă (1), care emite în spectrul vizibil, se pot selecta diferitele lungimi de undă cu ajutorul unui tambur (14) ce acționează monocromatorul (6), care produce descompunerea spectrală a luminii. După traversarea soluției, fluxul luminos cade pe fotocelulă (11) și este transformat într-un curent electric proporțional cu intensitatea acestui flux. Curentul electric rezultat este amplificat de un amplificator (12) și poate fi citit pe un aparat de măsură (13) a cărui scală redă valorile transmisiei (în %) și ale extincției.

Modul de lucru. Se conectează aparatul la rețeaua de curent și se alimentează stabilizatorul de tensiune prin ridicarea șalterului 7 (fig. 10.13). Pentru determinări, se pune într-o cuvă lichidul de referință (solventul substanței de cercetat), iar soluția de cercetat într-o altă cuvă și, după reglarea punctului zero al aparatului de măsură, se așază cele două cuve

în lăcașul cuvelor (2), astfel ca cea cu lichidul de referință să fie în dreapta, iar cea cu soluția de cercetat în stînga. După efectuarea acestor operații, se aduce cuva cu lichidul de referință în drumul fasciculului de lumină, trăgînd de mînerul lăcașului cuvelor (6), se deschide clapa de iluminare a fotocelulei (3) în poziția I și se reglează poziția acului aparatului de măsură la extincția zero, cu ajutorul potențiometrului digital (4) și cu șalterul de amplificare (5), dacă este cazul. În urma acestei operații, de reglare a valorii de referință, se aduce cuva cu soluția de cercetat în drumul fasciculului luminos, împingînd mînerul lăcașului cuvelor și se citește transmisia sau extincția pe scala aparatului de măsură.

Pentru determinarea concentrației substanțelor de cercetat, se pregătește din acestea o gamă de soluții de concentrații diferite și apoi se fac, după procedeul descris, citirile extincțiilor corespunzătoare lor. Cu datele obținute se construiește curba etalon, notînd pe ordonată extincția și pe abscisă concentrația

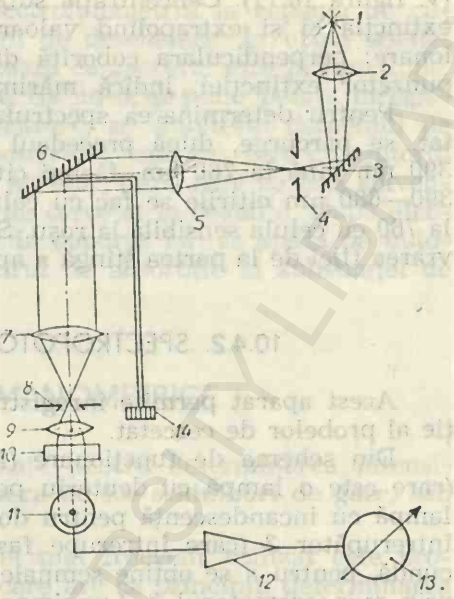


Fig. 10.12. Schema de funcționare a spectrofotometrului Spekol 10:

1 — sursa de lumină; 2 — condensator; 3 — oglindă; 4 — fanta de intrare; 5 — obiectivul colimator; 6 — rețeaua de refracție de precizie; 7 — obiectiv colimator automat; 8 — fanta de ieșire; 9 — lentilă; 10 — cuva cu proba de cercetat; 11 — fotocelula; 12 — amplificator; 13 — aparatul de măsură.

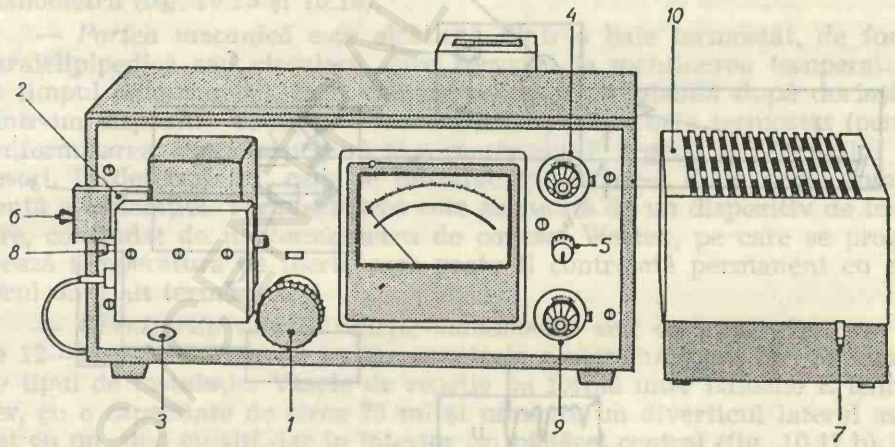


Fig. 10.13. Spectrofotometrul Spekol 10 văzut din față:

1 — tamburul de selectare a lungimilor de undă; 2 — lăcașul cuvelor; 3 — clapa de iluminare a fotocelulei; 4 — buton digital pentru reglarea punctului zero (E=∞); 5 — șalter de amplificare; 6 — mînerul lăcașului cuvelor; 7 — șalterul de deschidere a stabilizatorului de tensiune; 8 — tijă pentru schimbarea celulei sensibile la albastru cu celula sensibilă la roșu; 9 — buton digital pentru reglarea punctului zero (0%); 10 — stabilizator de tensiune.

(v. figura 10.11). Concentrația substanței de cercetat se află determinînd extincția ei și extrapolînd valoarea extincției citite, pe curba de etalonare: perpendiculara coborîtă din punctul de pe curba etalon corespunzător extincției, indică mărimea concentrației substanței cercetate.

Pentru determinarea spectrului de absorbție a substanței de cercetat, se parcurge, după procedeul descris, întreg spectrul vizibil (de la 390 nm pînă la 760 nm, făcînd citirea extincției din 10 în 10 nm). Între 390—680 nm citirile se fac cu celula sensibilă la albastru, iar de la 680 la 760 cu celula sensibilă la roșu. Schimbarea celulelor se face prin manevrarea tijei de la partea stîngă a aparatului (8).

10.4.2. SPECTROFOTOMETRUL SPECORD UV-VIS

Acest aparat permite înregistrarea automată a spectrului de absorbție al probelor de cercetat.

Din schema de funcționare (fig. 10.14) se vede că lumina sursei *1* (care este o lampă cu deuteriu pentru domeniul ultraviolet — UV și o lampă cu incandescență pentru domeniul vizibil — VIS) trece printr-un întrerupător *2* (care întrerupe fasciculul luminos de 480 de ori pe secundă, pentru a se obține semnale alternative ușor de amplificat) și apoi prin monocromatorul *3*. Lungimea de undă selectată de fanta *4* cade pe oglinda vibratoare *5*, care face ca radiația să cadă alternativ pe cuva cu proba *6*, respectiv pe cea cu lichidul de referință *7* (de 15 ori pe secundă). Radiațiile transmise cad pe detectorul *8* (fotomultiplicator sau celulă cu PbS, în funcție de domeniul spectral), iar semnalele acestuia, după amplificare (9) și demodulare (10) sînt înregistrate de potențiometrul înregistrator *11*. Viteza de deplasare a hîrtiei (coordonata lungimilor de undă) este sincronizată cu dispozitivul de selectare a lungimilor de undă de la monocromator.

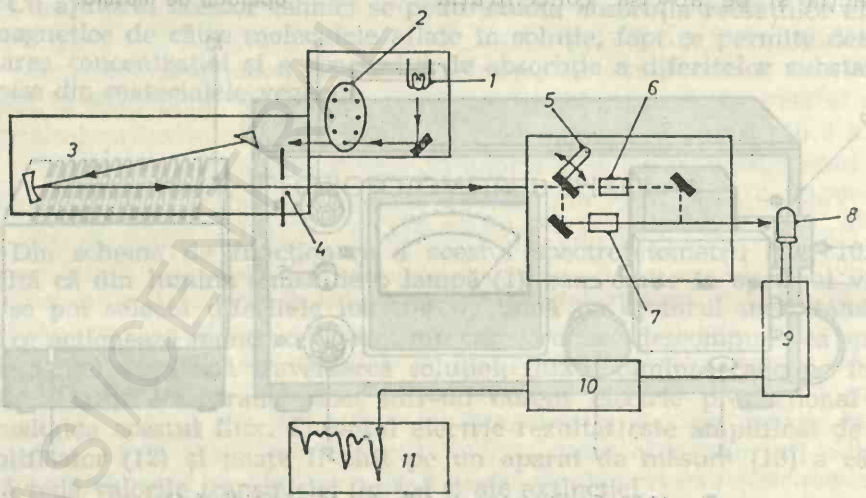


Fig. 10.14. Schema de funcționare a unui spectrofotometru cu înregistrare automată:

1 — sursa de lumină; 2 — întrerupător; 3 — monocromator; 4 — fantă de reglare automată; 5 — oglindă vibratoare; 6 — cuva cu proba de cercetat; 7 — cuva cu lichidul de referință; 8 — detector; 9 — amplificator; 10 — demodulator; 11 — potențiometru înregistrator.

Modul de lucru. Se conectează spectrofotometrul la rețeaua de curent electric și se apasă pe comutatorul de deschidere. În urma acestei operații, se aprinde un bec, care avertizează că aparatul este în funcțiune. Se pune hîrtia de înregistrare pe suport, fixînd-o, se pune peniţa înregistratoare, se potrivește viteza de înregistrare, se stabilește domeniul de vibrație al abscisei și al ordonatei, se potrivește valoarea zero cu ajutorul cuvelor de cuarț goale și apoi pline cu solvent, după care se lasă solventul într-una din cuve și se pune proba de cercetat în cealaltă. După efectuarea acestor operații, se așază cuvele în suporții lor, se apasă pe butonul de înregistrare și se trasează spectrul de absorbție al substanței de cercetat[1].

10.5. PROCEDEE MANOMETRICE

Procedeele manometrice sînt utilizate pentru determinarea intensității proceselor fiziologice în cursul cărora au loc schimburi de gaze, sau produceri, respectiv consumuri de gaze.

Dintre procedeele manometrice, cel mai frecvent utilizat este procedeul elaborat de O. Warburg, care are ca principiu determinarea cantităților de gaze produse sau consumate într-un sistem închis, prin măsurarea variației de presiune în condiții de volum și temperatură constante.

10.5.1. INSTALAȚIA WARBURG

Indiferent de tipul de construcție, instalația Warburg se compune din două părți principale: partea mecanică și garniturile vas de reacție-manometru (fig. 10.15 și 10.16).

— *Partea mecanică* este alcătuită dintr-o baie termostat, de formă paralelipipedică sau circulară, care servește la menținerea temperaturii, în timpul determinării, la o valoare constantă, reglabilă după dorință și dintr-un dispozitiv de agitare mecanică a apei din baia termostat (pentru uniformizarea temperaturii ei) și a materialului vegetal și reactivilor necesari, în determinări, care se introduc în cea de-a doua parte componentă a instalației. Termostatarea este asigurată de un dispozitiv de încălzire, comandat de un termometru de contact Wertex, pe care se programează temperatura de lucru, care poate fi controlată permanent cu ajutorul unui alt termometru.

— *Garniturile vas de reacție-manometru* sînt compuse dintr-un set de 12—14 vase de reacție cu manometrele corespunzătoare lor, în funcție de tipul de instalație. Vasele de reacție au forma unor baloane Erlenmeyer, cu o capacitate de circa 25 ml și prezintă un diverticul lateral astupat cu un dop cu șlif, iar în interior un păhărel central (fig. 10.17 b). Diverticulul lateral și păhărelul central servesc la introducerea reactivilor

[1] Înaintea efectuării determinărilor, este absolut necesară însușirea exactă a succesiunii operațiilor și a manipulării părților componente ale aparatului, iar determinările, pînă la asimilarea cunoștințelor referitoare la modul de lucru, trebuie făcute sub îndrumarea personalului competent.

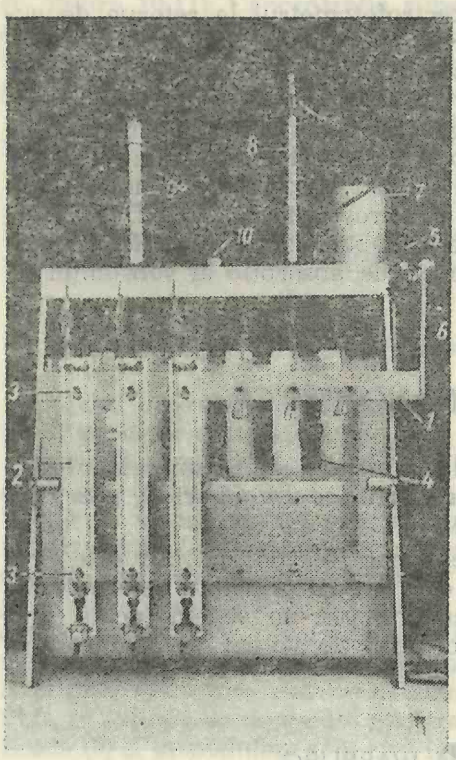


Fig. 10.15. Instalația Warburg:
1 – cadrul mobil de agitare mecanică a garniturilor vas de reacție – manometru; 2 – garnituri vas de reacție – manometru; 3 – șuruburile de fixare ale garniturilor vas de reacție – manometru la cadrul mobil de agitare mecanică; 4 – baia termostat; 5 – disc rotativ pentru reglarea amplitudinii agitării mecanice a cadrului mobil; 6 – brațul de legătură al cadrului mobil la discul rotativ; 7 – motor electric; 8 – termometru de contact; 9 – termometru de control; 10 – lăcaș pentru fixarea tijei elicei care agită apa din baia termostat.

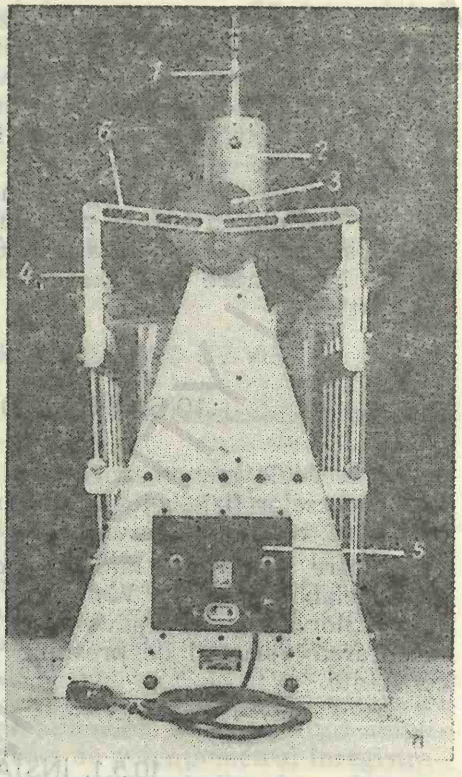


Fig. 10.16. Instalația Warburg văzută dinspre tabloul de comandă:
1 – termometru de contact; 2 – motor electric; 3 – discul rotativ; 4 cadrul mobil de agitare mecanică a garniturilor vas de reacție – manometru; 5 – tabloul de comandă al instalației; 6 – brațele de legătură ale cadrelor mobile la discul rotativ.

necesari în determinări, iar materialul vegetal se introduce, de regulă, în spațiul rămas în jurul păhărelului central. Manometrele sînt confecționate din tuburi de sticlă și au forma literei U, prezentînd două brațe dintre care unul este deschis (în contact permanent cu atmosfera externă), iar celălalt este prevăzut cu un robinet cu trei căi (fig. 10. 17 a). Brațul cu robinet prezintă o ramificație laterală, prevăzută cu un con de racordare (fig. 10.17 b), la care se fixează vasele de reacție. Ambele brațe ale manometrelor sînt gradate în cîte 300 de diviziuni, notate din 10 în 10 cu cifre de la 1 la 30. La partea inferioară manometrele prezintă un tub scurt de sticlă, la care se atașează rezervorul pentru lichidul manometric, confecționat dintr-un tub de cauciuc, închis la extremitatea inferioară cu o baghetă de sticlă. Aceste manometre sînt fixate pe o placă suport, din

metal, cu ajutorul unor cleme, astfel ca rezervorul lor cu lichid manometric să se găsească sub plăcuța unei cleme cu șurub. Această clemă permite reglarea nivelului lichidului manometric în ramurile manometrelor. Ca lichid manometric se folosește lichidul Brodie (reactivul nr. 24), care are o compoziție specială și este colorat cu un colorant, pentru a fi mai vizibil. În funcție de tipul de construcție, placa suport a manometrelor prezintă orificii, sau alte dispozitive, cu ajutorul cărora garniturile vas de reacție-manometru pot fi fixate pe cadrul metalic al dispozitivului de agitare mecanică al acestor componente ale instalației.

Pregătirea instalației pentru determinări. Întrucît procedeul permite determinarea cantităților de gaze produse sau consumate într-un sistem închis, prin măsurarea variației de presiune în condiții de volum constant și temperatură constantă, este absolut necesar ca, înainte de a se trece la efectuarea determinărilor, să se stabilească volumul total al sistemului închis (V), reprezentat prin: volumul vasului de reacție, volumul ramificației laterale a brațului cu robinet al manometrelor și volumul cuprins între robinetul acestora și diviziunea aleasă ca marcă de start pe brațul cu robinet al manometrelor (de obicei diviziunea 150).

Pentru determinarea volumului total al sistemului închis al garniturilor vas de reacție-manometru, se procedează și în felul următor:

a. Se curăță bine vasele de reacție și manometrele cu amestec sulfocromic (reactivul nr. 13), se spală foarte bine cu apă distilată și se usucă într-un termostat.

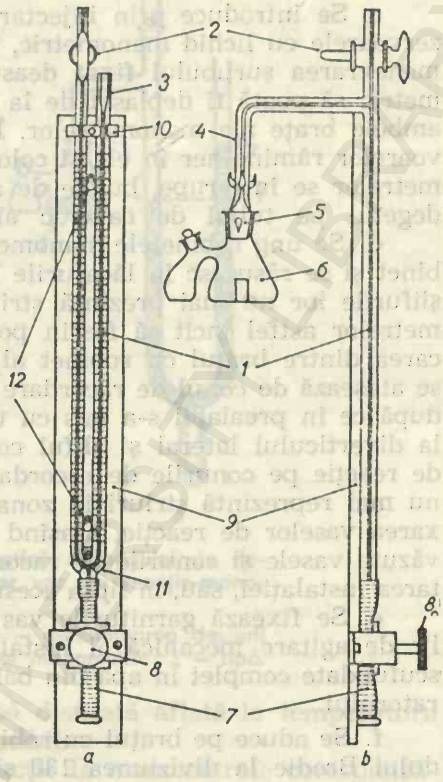


Fig. 10.17. Garniturile vas de reacție – manometru:

a – văzute din față; b – văzute lateral; 1 – capilarul manometrului; 2 – robinet cu trei căi; 3 – porțiunea dilatată în formă de pîlnie a brațului deschis al manometrului; 4 – ramificația laterală a manometrului; 5 – conul de racordare; 6 – vas de reacție; 7 – rezervorul cu lichid manometric; 8 – clema cu șurub a rezervorului cu lichid manometric; 9 – placa metalică pe care se fixează garniturile vas de reacție – manometru; 10 – clemă metalică pentru sprijinirea manometrului pe placa metalică; 12 – orificiile de pe placa metalică pentru fixarea garniturilor vas de reacție-manometru la cadrul mobil al instalației

b. După uscare, se atașează la extremitatea inferioară a manometrelor tuburile de cauciuc (fierte și uscate în prealabil) care servesc ca rezervor de lichid manometric și se astupă extremitatea lor liberă cu cîte o baghetă spălată și uscată în prealabil. Manometrele astfel pregătite se fixează pe plăcile suport și se așază la un stativ, confecționat special pentru ținerea lor în poziție verticală, în perioadele cînd nu se lucrează cu ele.

c. Se introduce prin injectare, dintr-o seringă, lichid Brodie în rezervoarele cu lichid manometric, într-o cantitate care să permită ca prin manevrarea şurubului fixat deasupra acestora nivelul lichidului manometric să poată fi deplasat de la diviziunea 0 pînă la diviziunea 300, pe ambele braţe ale manometrelor. În cazul cînd în timpul umplerii rezervoarelor rămîne aer în ele şi coloana de lichid Brodie din braţele manometrelor se întrerupe, bulele de aer se elimină prin apăsări repetate cu degetul pe tubul de cauciuc al rezervoarelor cu lichid manometric.

d. Se ung robinetele manometrelor cu un strat fin de unsoare de robinet şi se răsucesc în lăcaşurile lor pînă cînd, privite prin transparenţă, şlifurile lor nu mai prezintă striuri. Se răsucesc apoi robinetele manometrelor astfel încît să fie în poziţia deschis (adică să asigure comunicarea dintre braţul cu robinet al manometrelor şi atmosfera externă) şi se ataşează de conul de racordare al manometrelor cîte un vas de reacţie, după ce în prealabil s-a uns cu unsoare de robinet şliful dopului lor de la diverticulul lateral şi şliful conului de racordare. Se răsucesc vasele de reacţie pe conurile de racordare pînă cînd, privite prin transparenţă, nu mai reprezintă striuri în zona conului, după care se consolidează fixarea vaselor de reacţie, ataşînd pe ghearele de sticlă cu care sînt prevăzute vasele şi conurile de racordare, arcurile metalice existente în dotarea instalaţiei, sau, în lipsa acestora, inele de cauciuc.

e. Se fixează garniturile vas de reacţie-manometru la cadrul metalic de agitare mecanică al instalaţiei, astfel ca vasele de reacţie să fie scufundate complet în apa din baia termostat, aflată la temperatura laboratorului.

f. Se aduce pe braţul cu robinet al fiecărui manometru nivelul lichidului Brodie la diviziunea 130 şi se lasă garniturile în repaus timp de 15 minute pentru echilibrarea termică, adică pentru ca aerul din vasele de reacţie să ia temperatura băii termostat.

g. După echilibrarea termică se închid robinetele manometrelor (ele sînt în poziţia închis cînd pata de culoare albastră sau neagră de pe porţiunea exterioară a axului lor este situată pe latura superioară a axului) şi, manevrînd şurubul de la rezervorul cu lichid manometric, se aduce nivelul lichidului Brodie la diviziunea 150 (în cazul cînd aceasta a fost aleasă ca marcă de start pentru determinări) pe braţul cu robinet al acestora. În acest moment, din cauza măririi presiunii în sistemul închis, nivelul lichidului manometric va urca în ramura deschisă a manometrelor (fig. 10.18 a). Se citeşte pentru fiecare garnitură vas de reacţie-manometru această diferenţă de presiune pe braţul deschis al manometrelor, scăzînd din numărul de diviziuni la care s-a ridicat nivelul lichidului Brodie, 150 de diviziuni. Această deviere (h_1) se notează, în diviziuni, pentru fiecare garnitură, într-un tabel întocmit după modelul prezentat în tabelul 10.2.

TABELUL 10.2

Determinarea volumului total al sistemului închis al garniturilor vas de reacţie-manometru

Numărul garniturii	h_1 (diviziuni)	h_2 (diviziuni)	Volumul sistemului închis (mm^3)

h. Se deschid robinetele manometrelor, se detaşează garniturile vas de reacţie-manometru de pe cadrul metalic de agitare mecanică al instalaţiei, se scot vasele de reacţie de pe conurile de racordare ale manometrelor şi se introduce în fiecare vas de

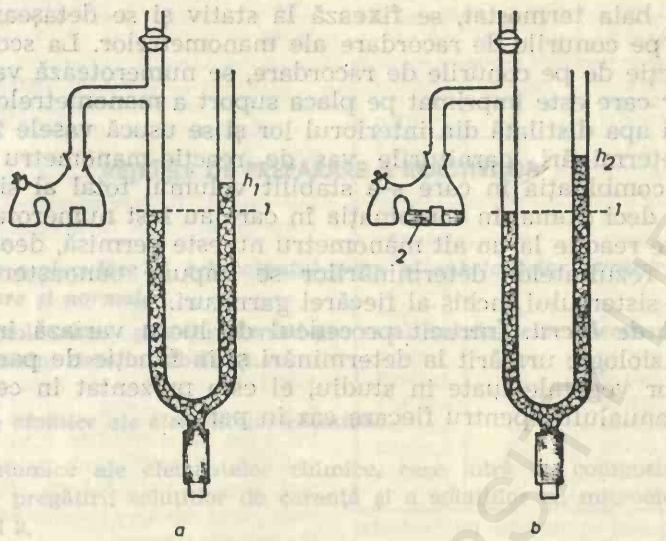


Fig. 10.18. Reprezentarea schematică a modului de determinare a volumului garniturilor vas de reacție-manometru:

a — determinarea devierii h_1; b — determinarea devierii h_2; 1 — nivelul inițial al lichidului manometric; 2 — apă.

reacție o cantitate de cîte 10 ml de apă distilată aflată la temperatura laboratorului, măsurată cît mai precis posibil.

i. Se ataşează din nou vasele de reacție la manometrele corespunzătoare, consolidînd fixarea lor pe conurile de racordare, cu arcuri metalice sau inele de cauciuc, se fixează garniturile vas de reacție-manometru la cadrul metalic al dispozitivului de agitare mecanică al instalației, conform indicațiilor de la punctul e şi se aduce pe brațul cu robinet al fiecărui manometru nivelul lichidului Brodie la diviziunea 130, după care se lasă garniturile în repaus, timp de 15 minute, pentru echilibrarea termică.

j. După scurgerea timpului necesar echilibrării termice, se închid robinetele manometrelor, se aduce nivelul lichidului Brodie la diviziunea 150 pe brațul cu robinet al acestora şi se citeşte variația de presiune (devierea h_2) pe brațul lor deschis (fig. 10.18 b), notînd datele în tabelul întocmit după modelul prezentat în tabelul 10.2.

k. Se calculează volumul total (V) al fiecărei garnituri vas de reacție-manometru, cu ajutorul relației:

$$a \cdot \frac{h_2}{h_2 - h_1},$$

în care *a* reprezintă volumul de apă distilată introdusă în vasele de reacție (în mm^3, deci a=10 000). Rezultatele obținute se înscriu în tabelul întocmit după modelul redat în tabelul 10.2.

După aflarea volumului total al sistemului închis al fiecărei garnituri vas de reacție-manometru (volum stabilit pentru situația în care marca de start pentru determinări a fost fixată la diviziunea 150), se deschid robinetele manometrelor, se scot garniturile vas de reacție-mano-

metru din baia termostat, se fixează la stativ și se detașează vasele de reacție de pe conurile de racordare ale manometrelor. La scoaterea vaselor de reacție de pe conurile de racordare, se numerotează vasele cu același număr care este imprimat pe placa suport a manometrelor, după care se înlătură apa distilată din interiorul lor și se usucă vasele în termostat.

La determinări, garniturile vas de reacție-manometru se folosesc numai în combinația în care s-a stabilit volumul total al sistemului lor închis (V), deci numai în combinația în care au fost numerotate. Atașarea unui vas de reacție la un alt manometru nu este permisă, deoarece pentru calcularea rezultatelor determinărilor se impune cunoașterea exactă a volumului sistemului închis al fiecărei garnituri.

Modul de lucru. Întrucît procedeul de lucru variază în funcție de procesul fiziologic urmărit la determinări și în funcție de particularitățile materialelor vegetale luate în studiu, el este prezentat în celelalte capitole ale manualului, pentru fiecare caz în parte.

BCU IAȘI / CENTRAL UNIVERSITY

B.C.U. „CAROL I" IAȘI

ANEXĂ

REȚETELE DE PREPARARE A REACTIVILOR[1]

1. *Masele moleculare și echivalentul-gram al substanțelor necesare preparării soluțiilor molare și normale.*

Masele moleculare și echivalentul-gram al substanțelor necesare efectuării experimentelor sînt date în tabelul 1.

2. *Masele atomice ale elementelor chimice.*

Masele atomice ale elementelor chimice, care intră în compoziția substanțelor necesare pregătirii soluțiilor de carență și a soluțiilor cu microelemente, sînt date în tabelul 2.

TABELUL 1

Masele moleculare și echivalentul-gram al substanțelor utilizate pentru pregătirea soluțiilor molare și normale

Substanța	Masa moleculară	Echivalentul-gram
$AlCl_3$	133,35	44,45
$Ba(OH)_2 \cdot 8H_2O$	315,50	157,75
$CaCl_2$	111,04	55,49
$Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	164,10	82,5
$CuSO_4$	159,61	79,82
H_3BO_3	61,84	20,61
$H_2MoO_4 \cdot H_2O$	180,03	90,01
KCl	74,56	74,56
KH_2PO_4	136,16	45,39
$KMnO_4$	158,03	31,60
KNO_3	101,11	101,11
KSCN	97,18	97,18
LiCl	42,40	42,40
$MgCl_2$	95,24	47,62
NaCl	58,46	58,46
$NaHCO_3$	81,01	40,50
Na_2CO_3	106,00	58,00
NaOH	40,01	40,01
NaH_2PO_4	156,06	52,02
$Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$	358,24	119,41
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	287,55	143,77
acetat de sodiu	136,06	136,06
acid oxalic	126,05	63,02
zaharoză	342,18	—

TABELUL 2

Masele atomice ale elementelor chimice care intră în compoziția substanțelor necesare pregătirii soluțiilor de carență și a soluțiilor cu microelemente

Denumirea elementului	Simbolul elementului	Masa atomică a elementului
Azot	N	14,008
Bor	B	10,82
Calciu	Ca	40,04
Clor	Cl	35,457
Cupru	Cu	63,57
Fosfor	P	31,02
Hidrogen	H	1,0078
Mangan	Mn	54,93
Molibden	Mo	96,00
Oxigen	O	16,00
Potasiu	K	39,096
Sodiu	Na	22,997
Sulf	S	32,06
Zinc	Zn	65,38

[1] Anexa a fost întocmită de Conf. dr. O. Boldor, pe baza bibliografiei menționate și a unor indicații primite din partea celorlalți autori ai manualului.

TABELUL 3

Coeficienții de corecție pentru aflarea volumului real al vaselor de sticlă[1]

Temperatura (°C)	Coeficientul de corecție	Temperatura (°C)	Coeficientul de corecție
0	1,00164	16	1,00214
1	1,00156	17	1,00229
2	1,00149	18	1,00244
3	1,00144	19	1,00261
4	1,00141	20	1,00278
5	1,00139	21	1,00297
6	1,00139	22	1,00317
7	1,00141	23	1,00338
8	1,00143	24	1,00360
9	1,00148	25	1,00383
10	1,00153	26	1,00406
11	1,00160	27	1,00431
12	1,00169	28	1,00457
13	1,00178	29	1,00483
14	1,00189	30	1,00511
15	1,00201		

[1] Volumul real al sticlelor este calculat pentru temperatura de 18°C.

3. Coeficienții de corecție pentru aflarea volumului real al recipientelor de sticlă.

Pentru stabilirea precisă a volumului sticlelor, prin cîntărirea lor în stare uscată (goale) și umplute cu apă, masa apei din ele se înmulțește cu coeficientul de corecție pentru temperatura la care s-a făcut determinarea. Coeficienții de corecție sînt dați în tabelul 3.

4. *Acid acetic* (masa moleculară și echivalentul-gram=60,03)

Pentru prepararea soluțiilor molare, normale și procentuale, se caută în tabelul 4 cantitatea de acid care se găsește într-un litru de reactiv de densitatea celui avut la dispoziție. Cunoscînd această valoare, se calculează, printr-o regulă de trei simplă, volumul de reactiv care trebuie luat pentru prepararea unui litru din soluția necesară.

Cantitatea de acid acetic conținut în soluții de diferite densități TABELUL 4

Densitatea la 20°C	Conținutul în CH_3COOH, în g		Densitatea la 20°C	Conținutul în CH_3COOH, în g		Densitatea la 20°C	Conținutul în CH_3COOH, în g	
	în 100 g	în 1 l		în 100 g	în 1 l		în 100 g	în 1 l
0,9996	1	9,996	1,0428	34	354,6	1,0678	68	726,1
1,0012	2	20,02	1,0438	35	365,3	1,0682	69	737,1
1,0025	3	30,08	1,0449	36	376,2	1,0685	70	748,0
1,0040	4	40,16	1,0459	37	387,0	1,0687	71	758,8
1,0055	5	50,28	1,0469	38	397,8	1,0690	72	769,7
1,0069	6	60,41	1,0479	39	408,7	1,0693	73	780,6
1,0083	7	70,58	1,0488	40	419,5	1,0694	74	791,4
1,0097	8	80,78	1,0498	41	430,4	1,0696	75	802,2
1,0111	9	91,00	1,0507	42	441,3	1,0698	76	813,0
1,0125	10	101,3	1,0516	43	452,2	1,0699	77	823,8
1,0139	11	111,5	1,0525	44	463,1	1,0700	78	834,5
1,0154	12	121,8	1,0534	45	474,0	1,0700	79	845,3
1,0168	13	132,2	1,0542	46	484,9	1,0700	80	856,0
1,0182	14	142,5	1,0551	47	495,9	1,0699	81	866,6
1,0195	15	152,9	1,0559	48	506,8	1,0698	82	877,2
1,0209	16	163,3	1,0567	49	517,8	1,0696	83	887,8
1,0223	17	173,8	1,0575	50	528,8	1,0693	84	898,2
1,0236	18	184,2	1,0582	51	539,7	1,0689	85	908,6
1,0250	19	194,8	1,0590	52	550,7	1,0685	86	918,9
1,0263	20	205,3	1,0597	53	561,6	1,0680	87	929,2
1,0276	21	215,8	1,0604	54	572,6	1,0675	88	939,4
1,0288	22	226,3	1,0611	55	583,6	1,0668	89	949,5
1,0301	23	236,9	1,0618	56	594,6	1,0661	90	959,5
1,0313	24	247,5	1,0624	57	605,6	1,0652	91	963,3
1,0326	25	258,2	1,0631	58	616,6	1,0643	92	979,2
1,0338	26	268,3	1,0637	59	627,6	1,0632	93	988,8
1,0349	27	279,4	1,0642	60	638,5	1,0619	94	998,2
1,0361	28	290,1	1,0648	61	649,5	1,0605	95	1 007
1,0372	29	300,8	1,0653	62	660,5	1,0588	96	1016
1,0384	30	311,5	1,0658	63	671,5	1,0570	97	1025
1,0395	31	322,2	1,0662	64	682,4	1,0549	98	1034
1,0406	32	333,0	1,0666	65	693,3	1,0524	99	1042
1,0417	33	343,8	1,0671	66	704,3	1,0498	100	1050
			1,0675	67	715,2			

5. *Acid azotic* (masa moleculară și echivalentul-gram=63,02).

Pentru prepararea soluțiilor molare, normale și procentuale, se caută în tabelul 5 cantitatea de acid care se găsește într-un litru de reactiv de densitatea celui avut la dispoziție. Cunoscînd această valoare, se calculează, printr-o regulă de trei simplă, volumul de reactiv care trebuie luat pentru prepararea unui litru din soluția necesară.

TABELUL 5

Masa specifică și conținutul în HNO_3 al soluțiilor apoase de acid azotic la 20°C

Masa specifică	HNO_3		Masa specifică	HNO_3	
	% de masă	g/l		% de masă	g/l
1,000	0,333	3,33	1,250	40,58	507,25
1,005	1,255	12,61	1,255	41,36	519,07
1,010	2,164	21,86	1,260	42,14	530,96
1,015	3,073	31,19	1,265	42,92	542,94
1,020	3,982	40,62	1,270	43,70	554,99
1,025	4,883	50,05	1,275	44,48	567,12
1,030	5,784	59,57	1,280	45,27	579,46
1,035	6,661	68,94	1,285	46,06	591,87
1,040	7,530	78,31	1,290	46,85	604,37
1,045	8,398	87,76	1,295	47,63	616,81
1,050	9,259	97,22	1,300	48,42	629,46
1,055	10,12	106,77	1,305	49,21	642,19
1,060	10,97	116,28	1,310	50,00	655,00
1,065	11,81	125,78	1,315	50,85	668,68
1,070	12,65	135,36	1,320	51,71	682,57
1,075	13,48	144,91	1,325	52,56	696,42
1,080	14,31	154,55	1,330	53,41	710,35
1,085	15,13	164,16	1,335	54,27	724,50
1,090	15,95	173,86	1,340	55,13	738,74
1,095	16,76	183,52	1,345	56,04	753,74
1,100	17,58	193,38	1,350	56,95	768,83
1,105	18,39	203,21	1,355	57,87	784,14
1,110	19,19	213,01	1,360	58,78	799,41
1,115	20,00	223,00	1,365	59,69	814,76
1,120	20,79	232,85	1,370	60,67	831,18
1,125	21,59	242,89	1,375	61,69	848,23
1,130	22,38	252,89	1,380	62,70	865,26
1,135	23,16	262,87	1,385	63,72	882,53
1,140	23,94	272,92	1,390	64,74	899,89
1,145	24,71	282,93	1,395	65,84	918,47
1,150	25,48	293,02	1,400	66,97	937,58
1,155	26,24	303,07	1,405	68,10	956,81
1,160	27,00	313,20	1,410	69,23	976,14
1,165	27,76	323,41	1,415	70,39	996,02
1,170	28,51	333,57	1,420	71,63	1 017,15
1,175	29,25	343,69	1,425	72,86	1 038,25
1,180	30,00	354,00	1,430	74,09	1 059,49
1,185	30,74	364,27	1,435	75,35	1 081,28
1,190	31,47	374,49	1,440	76,71	1 104,62
1,195	32,21	384,91	1,445	78,07	1 128,11
1,200	32,94	395,38	1,450	79,43	1 151,74
1,205	33,68	405,84	1,455	80,88	1 176,80
1,210	34,41	416,36	1,460	82,39	1 202,89
1,215	35,16	427,20	1,465	83,91	1 229,29
1,220	35,93	438,35	1,470	85,50	1 256,85
1,225	36,70	449,58	1,475	87,29	1 287,52
1,230	37,48	461,00	1,480	89,07	1 318,24
1,235	38,25	472,39	1,485	91,13	1 353,28
1,240	39,02	483,85	1,490	93,49	1 393,00
1,245	39,80	495,51	1,495	95,46	1 427,12

6. *Acid β-indolil acetic 0,02%.*

Se cîntăresc 0,02 g de substanță, care se pune într-un balon cotat de 100 ml, umplut pe jumătate cu apă distilată. Operația trebuie făcută cu o zi înainte de utilizare, deoarece substanța se dizolvă greu. Pentru a grăbi dizolvarea, se poate încălzi conținutul balonului, fără a depăși însă temperatura de 40°C. După dizolvare, se aduce soluția la volumul de 100 ml, prin adăugare de apă distilată în balonul cotat, pînă la semn.

7. *Acid clorhidric* (masa moleculară și echivalentul-gram=36,47).

Pentru prepararea soluțiilor molare, normale și procentuale, se caută în tabelul 6 cantitatea de acid care se găsește într-un litru de reactiv de densitatea celui avut la dispoziție. Cunoscînd această valoare, sa calculează, printr-o regulă de trei simplă, volumul de reactiv care trebuie luat pentru pregătirea unui litru din soluția necesară.

TABELUL 6

Masa specifică și conținutul în HCl al soluțiilor apoase de acid clorhidric, la 20°C

Masa specifică	HCl		Masa specifică	HCl	
	% de masă	g/l		% de masă	g/l
1,000	0,36	3,60	1,100	20,39	224,29
1,005	1,36	13,67	1,105	21,36	236,03
1,010	2,36	23,84	1,110	22,33	247,86
1,015	3,37	34,21	1,115	23,29	259,68
1,020	4,39	44,78	1,120	24,25	271,60
1,025	5,41	55,45	1,125	25,22	283,72
1,030	6,43	66,23	1,130	26,20	296,06
1,035	7,46	77,21	1,135	27,18	308,49
1,040	8,49	88,30	1,140	28,18	321,25
1,045	9,51	99,38	1,145	29,17	334,00
1,050	10,52	110,46	1,150	30,14	346,61
1,055	11,52	121,54	1,155	31,14	359,64
1,060	12,51	132,61	1,160	32,14	372,82
1,065	13,50	143,78	1,165	33,16	386,32
1,070	14,49	155,04	1,170	34,18	399,91
1,075	15,48	166,41	1,175	35,20	413,60
1,080	16,47	177,88	1,180	36,23	427,51
1,085	17,45	189,33	1,185	37,27	441,65
1,090	18,43	200,89	1,190	38,32	456,01
1,095	19,41	212,54	1,195	39,37	470,47
			1,198	40,00	479,15

TABELUL 7

Masa specifică și conținutul în $HClO_4$ al soluțiilor de acid percloric, la 15°C

Masa specifică	$HClO_4$ (%)	Masa specifică	$HClO_4$ (%)
1,0050	1	1,1581	24
1,0109	2	1,1900	28
1,0228	4	1,2239	32
1,0348	6	1,2603	36
1,0471	8	1,2991	40
1,0597	10	1,3521	45
1,0726	12	1,4103	50
1,0859	14	1,4733	55
1,0995	16	1,5389	60
1,1135	18	1,6059	65
1,1279	20	1,6736	70

8. *Acid percloric* (masa moleculară și echivalentul-gram=100,47).

Pentru prepararea soluțiilor molare, normale și procentuale, se caută în tabelul 7 în ce procent se găsește substanța în reactivul de densitatea celui avut la dispoziție. Cunoscînd această valoare, se calculează, printr-o regulă de trei simplă, cantitatea de reactiv care trebuie luată pentru prepararea unui litru din soluția dorită.

9. *Acid sulfuric* (masa moleculară =98,09, iar echivalentul-gram=49,045).

Pentru prepararea soluțiilor molare, normale și procentuale, se caută în tabelul 8 cantitatea de acid care se

găsește într-un litru de reactiv de densitatea celui avut la dispoziție. Cunoscînd această valoare, se calculează, printr-o regulă de trei simplă, volumul de reactiv care trebuie luat pentru prepararea unui litru din soluția necesară.

TABELUL 8

Masa specifică și conținutul în H_2SO_4 al soluțiilor apoase de acid sulfuric, la 20°C

Masa specifică	H_2SO_4		Masa specifică	H_2SO_4	
	% de masă	g/l		% de masă	g/l
1,000	0,261	2,609	1,275	36,78	468,94
1,005	0,986	9,904	1,280	37,36	478,21
1,010	1,731	17,483	1,285	37,95	487,66
1,015	2,485	25,223	1,290	38,53	497,04
1,020	3,242	33,068	1,295	39,10	506,34
1,025	4,000	41,000	1,300	39,68	515,84
1,030	4,746	48,884	1,305	40,25	525,26
1,035	5,493	56,852	1,310	40,82	534,74
1,040	6,237	64,865	1,315	41,39	544,28
1,045	6,956	72,690	1,320	41,95	553,74
1,050	7,704	80,892	1,325	42,51	563,26
1,055	8,415	88,778	1,330	43,07	572,83
1,060	9,129	96,767	1,335	43,62	582,33
1,065	9,843	104,83	1,340	44,17	591,88
1,070	10,56	112,46	1,345	44,72	601,48
1,075	11,26	121,04	1,350	45,26	611,01
1,080	11,96	129,17	1,355	45,80	620,59
1,085	12,66	137,36	1,360	46,33	630,09
1,090	13,36	145,62	1,365	46,86	639,64
1,095	14,04	153,74	1,370	47,39	649,24
1,100	14,73	162,03	1,375	47,92	658,90
1,105	15,41	170,28	1,380	48,45	668,61
1,110	16,08	178,49	1,385	48,97	678,23
1,115	16,76	186,87	1,390	49,48	687,77
1,120	17,43	195,22	1,395	49,99	697,36
1,125	18,09	203,51	1,400	50,50	707,00
1,130	18,76	211,99	1,405	51,01	716,69
1,135	19,42	220,42	1,410	51,52	726,43
1,140	20,08	228,91	1,415	52,02	735,58
1,145	20,73	237,36	1,420	52,51	745,64
1,150	21,38	245,87	1,425	53,01	755,39
1,155	22,03	254,45	1,430	53,50	765,05
1,160	22,67	262,97	1,435	54,00	774,90
1,165	23,31	271,55	1,440	54,49	784,66
1,170	23,95	280,21	1,445	54,97	794,32
1,175	24,58	288,81	1,450	55,45	804,03
1,180	25,21	297,48	1,455	55,93	813,78
1,185	25,84	306,20	1,460	56,41	823,59
1,190	26,47	314,99	1,465	56,89	833,44
1,195	27,10	323,85	1,470	57,36	843,44
1,200	27,72	332,64	1,475	57,84	853,14
1,205	28,33	341,38	1,480	58,31	862,99
1,210	28,95	350,29	1,485	58,78	872,88
1,215	29,57	359,28	1,490	59,24	882,68
1,220	30,18	368,20	1,495	59,70	892,52
1,225	30,79	377,18	1,500	60,17	902,55
1,230	31,40	386,22	1,505	60,62	912,33
1,235	32,01	395,32	1,510	61,08	922,31
1,240	32,61	404,36	1,515	61,54	932,33
1,245	33,22	413,59	1,520	62,00	942,40
1,250	33,82	422,75	1,525	62,45	952,36
1,255	34,42	431,97	1,530	62,91	962,52
1,260	35,01	441,13	1,535	63,36	972,58
1,265	35,60	450,34	1,540	63,81	982,67
1,270	36,19	459,61	1,545	64,26	992,81

TABELUL 8 (CONTINUARE)

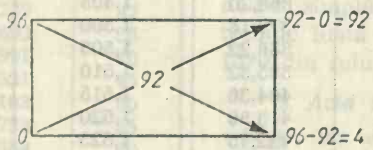
Masa specifică	H_2SO_4		Masa specifică	H_2SO_4	
	% de masă	g/l		% de masă	g/l
1,550	64,71	1 003,01	1,715	78,93	1 353,65
1,555	65,15	1 013,09	1,720	79,37	1 365,16
1,560	65,59	1 023,20	1,725	79,81	1 376,72
1,565	66,03	1 033,37	1,730	80,25	1 388,33
1,570	66,47	1 043,58	1,735	80,70	1 400,15
1,575	66,91	1 053,84	1,740	81,16	1 412,18
1,580	67,35	1 064,13	1,745	81,62	1 424,27
1,585	67,79	1 074,47	1,750	82,09	1 436,58
1,590	68,23	1 084,86	1,755	82,57	1 449,11
1,595	68,66	1 095,12	1,760	83,06	1 461,86
1,600	69,09	1 105,44	1,765	83,57	1 475,11
1,605	69,53	1 115,96	1,770	84,08	1 488,22
1,610	69,96	1 126,36	1,775	84,61	1 501,83
1,615	70,39	1 136,80	1,780	85,16	1 515,85
1,620	70,82	1 147,28	1,785	85,74	1 530,46
1,625	71,25	1 157,81	1,790	86,35	1 545,67
1,630	71,67	1 168,22	1,795	86,99	1 561,47
1,635	72,09	1 178,67	1,800	87,69	1 578,42
1,640	72,52	1 189,33	1,805	88,43	1 596,16
1,645	72,95	1 200,03	1,810	89,23	1 615,06
1,650	73,37	1 210,61	1,815	90,12	1 635,68
1,655	73,80	1 221,39	1,820	91,11	1 658,20
1,660	74,22	1 232,05	1,821	91,33	1 663,19
1,665	74,64	1 242,75	1,822	91,56	1 668,22
1,670	75,07	1 253,67	1,823	91,78	1 673,15
1,675	75,49	1 264,45	1,824	92,00	1 678,08
1,680	75,92	1 275,46	1,825	92,25	1 683,56
1,685	76,34	1 286,33	1,826	92,51	1 689,23
1,690	76,77	1 297,41	1,827	92,77	1 695,91
1,695	77,20	1 308,54	1,828	93,03	1 700,59
1,700	77,63	1 319,71	1,829	93,33	1 707,57
1,705	78,06	1 330,92	1,830	93,64	1 713,61
1,710	78,49	1 342,18	1,831	93,94	1 721,00

10. *Albastru de anilină.*

Se dizolvă, într-un balon cotat de un litru, o cantitate de 0,01 g de substanță în 10 ml de alcool etilic 96% și se completează cu apă distilată pînă la semn.

11. *Alcool etilic.*

Soluțiile necesare se prepară după indicațiile date în tabelul 9. În cazul cînd aceste soluții nu pot fi pregătite pe baza datelor din tabel, se recurge la regula amestecurilor, procedînd astfel: se înscriu în colțurile din stînga ale unui dreptunghi cifrele care reprezintă concentrația în procente a soluției de la care se pornește (de exemplu 96%) și a apei distilate (0%); în mijlocul dreptunghiului, la intersecția celor două diagonale, se înscrie concentrația soluției de preparat (de



exemplu 92%), iar în prelungirea diagonalelor, în colțurile din dreapta ale dreptunghiului, se înscriu diferențele dintre concentrația soluției inițiale și concentrația soluției de pregătit, scăzînd, pe diagonale, cifra cea mai mică din cea mai mare.

TABELUL 9

Cantitatea de apă (în ml) care trebuie adăugată la 100 ml alcool de o anumită concentrație pentru a fi adus la o concentrație mai mică

Concentrația reală a alcoolului diluat în vol. (%)	Concentrația reală a alcoolului de diluat în volume (%)																
	96	95	90	85	80	75	70	65	60	55	50	45	40	35	30	25	20
	Cantitatea de apă (în ml) necesară pentru diluarea a 100 ml alcool de concentrația de mai sus pentru a fi adus la concentrația menționată în stînga tabelului																
95	1,25																
90	7,7	6,4															
85	14,7	13,3	6,6														
80	22,4	20,9	13,8	6,8													
75	31,1	29,5	21,9	14,5	7,2												
70	40,8	39,2	31,1	23,1	15,3	7,6											
65	52,0	50,2	41,6	33,0	24,6	16,4	8,1										
60	64,9	63,0	53,5	44,4	35,4	26,4	17,5	8,7									
55	80,1	78,1	67,9	58,0	48,1	38,3	28,6	19,0	9,5								
50	98,1	96,0	84,7	73,9	63,1	52,4	41,8	31,3	20,8	10,3							
45	120,1	117,6	105,3	93,3	81,3	69,5	57,7	46,1	34,5	22,9	11,4						
40	147,2	144,5	130,8	117,3	104,0	90,8	77,6	64,5	51,5	38,4	25,5	12,7					
35	181,8	178,7	163,8	147,9	132,8	117,8	102,8	87,9	73,0	58,2	43,5	28,9	14,4				
30	227,7	224,1	266,1	188,5	171,0	156,6	136,2	119,0	101,7	84,5	67,4	50,4	33,5	16,7			
25	291,6	287,4	245,1	245,1	224,3	203,6	182,9	162,2	141,7	121,2	100,7	80,4	60,1	40,0	20,0		
20	387,2	382,4	356,2	330,1	304,1	278,3	252,5	227,0	201,5	176,0	150,5	125,3	100,0	74,9	49,9	24,9	
15	546,6	539,5	505,2	471,0	436,9	402,8	368,8	334,9	301,1	267,3	233,6	200,0	166,4	133,0	99,7	66,4	33,2
10	865,1	855,5	804,5	—	702,9	—	601,6	—	500,5	—	399,8	—	—	—	—	—	—

TABELUL 10

Cantitatea de alcool metilic conținut (în g la %) în soluții de diferite densități

Densitatea g/cm³ (la 15°C)	CH_3OH g la %	Densitatea g/cm³ (la 15°C)	CH_3OH g la %	Densitatea g/cm³ (la 15°C)	CH_3OH g la %
0,997	1	0,947	34	0,880	68
0,995	2	0,944	36	0,875	70
0,992	4	0,941	38	0,870	72
0,989	6	0,937	40	0,865	74
0,985	8	0,934	42	0,860	76
0,982	10	0,930	44	0,855	78
0,979	12	0,926	46	0,850	80
0,977	14	0,922	48	0,845	82
0,974	16	0,919	50	0,840	84
0,971	18	0,915	52	0,835	86
0,968	20	0,910	54	0,829	88
0,965	22	0,906	56	0,824	90
0,963	24	0,902	58	0,818	92
0,960	26	0,898	60	0,813	94
0,957	28	0,893	62	0,807	96
0,954	30	0,889	64	0,801	98
0,951	32	0,884	66	0,796	100

Diferențele obținute pe aceeași orizontală reprezintă cantitățile (în grame) care trebuie luate pentru a obține soluția necesară. În cazul exemplificat, pentru prepararea soluției de 92% trebuie să se ia 92 g din soluția de alcool etilic de 96% și 4 g de apă distilată.

12. *Alcool metilic.*

Pentru prepararea soluțiilor necesare, se caută în tabelul 10 cantitatea de substanță care se găsește în 100 ml de reactiv, de densitatea celui avut la dispoziție și se recurge la regula amestecurilor (v. punctul 11).

13. *Amestec sulfo-cromic.*

Se amestecă o soluție de bicromat de potasiu 30% cu acid sulfuric concentrat (d=1,84), în proporție de 1 : 3.

14. *Apă oxigenată.*

Soluțiile necesare se prepară pornind de la perhidrol, care are o concentrație de aproximativ 30%. Pentru prepararea soluțiilor necesare, trebuie să se determine întîi exact cantitatea de apă oxigenată care se găsește în perhidrol. În acest scop, se ia 1 ml de perhidrol și se diluează cu apă distilată pînă la 100 ml. Din această soluție se iau în trei baloane Erlenmeyer cîte 20 ml, li se adaugă cîte 5 ml de H_2SO_4 diluat (în patru volume de apă distilată se toarnă cu precauție un volum de H_2SO_4 cu d=1,84) și se titrează cu o soluție de $KMnO_4$ 0,1 n, pînă la apariția culorii roz.

Calculul cantității de apă oxigenată care se găsește în perhidrol, se face astfel: dacă la titrarea a 20 ml soluție de H_2O_2 s-au folosit (de exemplu) 36,12 ml de soluție de $KMnO_4$ 0,1 n (media a trei titrări), cu F=0,9800, rezultă că în realitate s-au folosit 36,12 · 0,9800=35,4 ml de soluție de $KMnO_4$ exact 0,1 n. Înmulțind volumul soluției de permanganat de potasiu folosit la titrare, cu titrul soluției de apă oxigenată 0,1 n, vom obține cantitatea de H_2O_2 care se găsește în 20 ml de soluție diluată, respectiv în 0,2 ml de perhidrol. Pentru a afla titrul soluției de apă oxigenată 0,1 n, se pornește de la masa moleculară a apei oxigenate, care este 34.

Echivalentul-gram va fi 34 : 2=17; deci într-o soluție 0,1 n trebuie să se găsească 17 g H_2O_2 la litru. De aici rezultă, că, în cazul exemplificat, în 20 ml de soluție diluată de apă oxigenată se vor găsi 35,4·0,0017=0,06018 g H_2O_2. În 100 ml de soluție (sau într-un mililitru de perhidrol) se vor găsi

$$\frac{0{,}06018 \cdot 100}{20} = 0{,}3009 \text{ g } H_2O_2$$

Știind că un mililitru de perhidrol conține 0,3009 g H_2O_2, pentru prepararea, de pildă, a unei soluții de H_2O_2 3% se face următorul raționament:

Dacă 0,3009 g H_2O_2 se găsesc în 1 ml perhidrol
3 g H_2O_2 se vor găsi în x ml

$$x = \frac{3}{0{,}3009} = 9{,}97 \text{ ml perhidrol}$$

Deci, pentru prepararea soluției de H_2O_2 3% se pun într-un balon cotat de 100 ml 9,97 ml de perhidrol și se completează cu apă distilată pînă la semn.

15. *Brucină.*

Se dizolvă 0,2 g de substanță în 100 ml acid sulfuric chimic pur, cu d=1,84.

16. *Clei de amidon.*

Se cîntărește cantitatea de amidon solubil indicată și se agită într-un balon Erlenmeyer cu 20 ml de apă distilată rece. După aceea, se toarnă treptat peste 80 ml de apă distilată care fierbe, agitînd în acest timp cu o baghetă de sticlă conținutul balonului cu apa aflată la fierbere. Soluția obținută se mai lasă să fiarbă 3—5 minute.

17. *Cloral hidrat.*

Se dizolvă 5 g de substanță în 2 ml de apă distilată, se adaugă 1—2 ml de soluție Lugol (reactivul nr. 25), după care se completează cu apă distilată pînă la volumul de 100 ml.

18. *Cobaltnitrit de sodiu.*

Se pregătește din următoarele soluții:

a. Se dizolvă 25 g de $Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ în 50 ml de apă distilată și se adaugă 12,5 ml de acid acetic glacial. Se păstrează în sticlă brună, la rece.

b. Se dizolvă la cald 120 g de $NaNO_2$ în 180 ml de apă distilată și se păstrează în sticlă brună, la rece.

Cu o zi înainte de întrebuințare, se amestecă o parte din reactivul *a* cu trei părți din reactivul *b* și se trece prin amestec un curent de aer, prin barbotare, timp de 1—2 ore (pentru îndepărtarea oxizilor de azot), după care se lasă să stea 5 ore și apoi se filtrează. Păstrat în sticlă brună, la rece, reactivul poate fi folosit 3—4 zile.

19. *Colodiu.*

Se dizolvă 4 g celoidină într-un amestec de alcool etilic de 96% și eter, în proporție de 1 : 2, într-un balon cotat de 100 ml.

20. *Difenilamină.*

Se dizolvă cantitatea de substanță indicată în 50 ml de H_2SO_4 p.a., cu d=1,84.

21. *Fenolftaleină.*

Se dizolvă cantitatea de substanță indicată în 100 ml de alcool etilic de 96%.

22. *Hexanitrocupriat de sodiu și plumb.*

Se acidulează 15 ml de apă distilată cu 0,2 ml de acid acetic 30% (reactivul nr. 4) și se dizolvă în ea 2 g de $NaNO_2$ (lipsit de potasiu), 0,9 g de acetat de cupru și 1,6 g acetat de plumb. Reactivul trebuie preparat proaspăt, deoarece nu poate fi folosit decît 2—5 zile.

23. *Hidroxid de amoniu.* (masa moleculară=17,03; echivalentul-gram=17,03).

Pentru prepararea soluțiilor molare, normale și procentuale, se caută în tabelul 11 cantitatea de NH_3 care se găsește într-un litru de reactiv, de densitatea celui avut la dispoziție. Cunoscînd această valoare, se calculează, printr-o regulă de trei simplă, volumul de reactiv care trebuie luat pentru prepararea unui litru din soluția necesară.

TABELUL 11

Masa specifică și conținutul în NH_3 al soluțiilor apoase de hidroxid de amoniu, la 20°C

Masa specifică	NH_3		Masa specifică	NH_3	
	% de masă	g/l		% de masă	g/l
0,998	0,047	0,463	0,938	15,47	145,10
0,996	0,512	5,10	0,936	16,06	150,32
0,994	0,977	9,70	0,934	16,65	155,51
0,992	1,43	14,19	0,932	17,24	160,67
0,990	1,89	18,71	0,930	17,85	166,01
0,988	2,35	23,21	0,928	18,45	171,21
0,986	2,82	27,81	0,926	19,06	176,49
0,984	3,30	32,47	0,924	19,67	181,74
0,982	3,78	37,11	0,922	20,27	186,88
0,980	4,27	41,85	0,920	20,88	192,10
0,978	4,76	46,55	0,918	21,50	197,37
0,976	5,25	51,24	0,916	22,12	202,62
0,974	5,75	56,01	0,914	22,75	207,94
0,972	6,25	61,75	0,912	23,39	213,32
0,970	6,75	65,48	0,910	24,03	218,67
0,968	7,26	70,28	0,908	24,68	224,09
0,966	7,77	75,05	0,906	25,33	229,49
0,964	8,29	79,91	0,904	26,00	235,04
0,962	8,82	84,85	0,902	26,67	240,56
0,960	9,34	89,66	0,900	27,33	245,97
0,958	9,87	94,55	0,898	28,00	251,44
0,956	10,40	99,42	0,896	28,67	256,88
0,954	10,95	104,47	0,894	29,33	262,21
0,952	11,49	109,39	0,892	30,00	267,60
0,950	12,03	114,29	0,890	30,68	273,05
0,948	12,58	119,25	0,888	31,37	278,56
0,946	13,14	124,31	0,886	32,09	284,31
0,944	13,71	129,42	0,884	32,84	290,30
0,942	14,29	134,61	0,882	33,59	296,26
0,940	14,88	139,87	0,880	34,35	302,28

24. *Lichid Brodie.*

Se dizolvă într-un balon cotat de 500 ml 5 g de taurocolat de sodiu și 23 g de NaCl în apă distilată, după care se adaugă 10 picături dintr-o soluție alcoolică saturată de timol, 5 ml de soluție de albastru de metilen 10% și se completează cu apă distilată pînă la semn. Densitatea acestui lichid este de 1,034, deci o coloană de lichid Brodie de 10 000 mm corespunde la o coloană de 760 mm mercur.

25. *Lugol.*

Se dizolvă 4 g de iodură de potasiu în 10 ml apă distilată și în soluția obținută se dizolvă 1 g de iod, după care se adaugă 290 ml de apă distilată.

26. *Molibdat de amoniu.*

Se amestecă volume egale din soluția de molibdat de amoniu de concentrația indicată, cu acid sulfuric concentrat (d=1,84).

27. *Morină.*

Se cîntăresc 2 g de substanță (tetraoxiflavonol) și se dizolvă în alcool etilic de 96% într-un balon cotat de 100 ml.

28. *Pastă cu apă.*

Se amestecă 5 g de lanolină încălzită cu 5 ml de apă distilată caldă.

29. *Pastă cu auxină.*

Se amestecă 5 g de lanolină încălzită cu 5 ml de soluție apoasă caldă de acid β-indolil acetic 1 : 5 000.

30. *Pirogalol.*

Se dizolvă 40 g de substanță în 90 ml de apă distilată, proaspăt fiartă. Soluția se păstrează în sticlă închisă ermetic (nu se poate păstra decît un timp scurt, deoarece se brunifică repede). În momentul întrebuințării i se adaugă 45 ml de soluție de KOH 33%.

31. *Reactiv Nessler.*

Se dizolvă 20 g KI în 50 ml de apă distilată și se adaugă, treptat, aproximativ 32 g de HgI_2 (pînă la saturare), după care se amestecă cu 460 ml de soluție care conține 134 g de KOH. După depunerea precipitatului, soluția se decantează și se păstrează în sticlă de culoare brună.

32. *Roșu de metil*

Se dizolvă 0,1 g de substanță în 60 ml de alcool etilic 96% și se diluează cu apă distilată pînă la un volum de 100 ml într-un balon cotat.

33. *Sol coloidal cu bicromat de potasiu.*

Se dizolvă, la cald, 4 g de gelatină în 120 ml de apă distilată și se adaugă 0,12 g de $K_2Cr_2O_7$.

34. *Soluție de $Ba(OH)_2$ stabilizat.*

Se dizolvă, într-o sticlă bine închisă, într-un litru de apă distilată fiartă în prealabil (pentru degajarea CO_2 dizolvat în ea) 7 g de $Ba(OH)_2 \cdot 8H_2O$ și 1 g de $BaCl_2 \cdot 2H_2O$. Solvirea durează 2—3 zile, timp în care se agită soluția din cînd în cînd. Se lasă apoi în repaus și după decantare se trece soluția limpede, prin sifonare, într-un recipient prevăzut cu o instalație (fig. 5.11) care permite utilizarea ei, fără ca să vină în contact cu CO_2 din atmosferă. Deoarece soluția se stabilizează în timp, se recomandă să se prepare o cantitate mai mare.

35. *Soluție etalon cu pH=1,6.*

Se pregătesc:

a. O soluție care conține 21,008 g acid citric și 200 ml de NaOH 1 n, care se completează, cu apă bidistilată, fiartă și răcită, pînă la semn, într-un balon cotat de un litru.

b. O soluție de HCl 0,1 n (reactivul nr. 7).

În momentul folosirii se amestecă 24,5 ml din soluția *a* cu 75,5 ml din soția *b*.

36. *Soluție etalon cu pH=4,0.*

Se pregătesc soluțiile indicate la reactivul nr. 34 și în momentul utilizării se amestecă 56 ml din soluția *a* cu 44 ml din soluția *b*.

37. *Soluție etalon cu pH=6,8.*

Se pregătesc:

a. O soluție care conține 21,008 g de acid citric, în apă bidistilată, fiartă și răcită, care se aduce pînă la semn, într-un balon cotat, de un litru.

b. O soluție care conține 35,620 g de $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$, în apă bidistilată, fiartă și răcită, care se aduce pînă la semn, într-un balon cotat de un litru.

În momentul utilizării, se amestecă 22,75 ml de soluție *a* cu 77,25 ml de soluție *b*.

TABELUL 12

Soluțiile-tampon Sörrensen

pH	ml soluție Na_2HPO_4 M/15	ml soluție KH_2PO_4 M/15
4,94	1,0	99,0
5,29	2,5	97,5
5,59	5,0	95,0
5,91	10,0	90,0
6,24	20,0	80,0
6,47	30,0	70,0
6,64	40,0	60,0
6,81	50,0	50,0
6,98	60,0	40,0
7,17	70,0	30,0
7,38	80,0	20,0
7,73	90,0	10,0
8,04	95,0	5,0
8,34	97,5	2,5
8,68	99,0	1,0
9,18	100,0	0,0

38. *Soluție fenolică de apă iodată.*

Se amestecă 8 părți de fenol cu două părți de apă distilată proaspăt pregătită, în care s-a dizolvat în prealabil 1 g de iod.

39. *Soluție de iodură de potasiu în hidroxid de sodiu.*

Se dizolvă 40 g de NaOH și 20 g de KI în 80 ml apă distilată.

40. *Soluție de $MnCl_2$.*

Se dizolvă 100 g de $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ în 200 ml apă distilată.

41. *Soluții-tampon Sörrensen.*

Se amestecă, în cantitățile menționate în tabelul 12 o soluție de Na_2HPO_4 M/15 cu o soluție de KH_2PO_4 M/15. Cu aceste soluții se pot realiza valori de *pH* cuprinse între 4,94

TABELUL 13

Soluțiile-tampon Warburg, la 25°C

Nr. soluției	Soluție Na_2CO_3 0,1 *M* (ml)	Soluție $NaHCO_3$ 0,1 *M* (ml)	Conținutul în milimoli Na	Conținutul în CO_2			*pH*-ul soluției
				în soluție mol/l	în aer		
					mol/l	mg/l	
1	85	15	185	$0{,}53 \cdot 10^{-6}$	$0{,}64 \cdot 10^{-6}$	0,03	10,42
2	80	20	180	1,0 „	1,2 „	0,05	10,30
3	75	25	175	1,7 „	2,0 „	0,09	10,19
4	70	30	170	2,6 „	3,1 „	0,13	10,10
5	60	40	160	5,3 „	6,4 „	0,28	9,93
6	50	50	150	9,8 „	11,8 „	0,52	9,79
7	35	65	135	23 „	27 „	1,20	9,51
8	25	75	125	43 „	52 „	2,30	9,32
9	15	85	115	91 „	110 „	4,85	9,08
10	10	90	110	150 „	180 „	7,90	8,91
11	5	95	105	330 „	400 „	17,60	8,69

și 9,18. În cazul cînd este necesar să se realizeze un *p*H a cărui valoare nu este menționată în tabel, cantitățile de soluție care trebuie luate se calculează prin interpolare.

42. Soluții-tampon Warburg.

Se amestecă, în cantitățile menționate în tabelul 13, o soluție de Na_2CO_3, 0,1 M cu o soluție de $NaHCO_3$ 0,1 M.

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Abderhalden, E. *Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden.* Berlin — Wien, Urban Schwarzenburg, 1939.
2. Artenie, V. *Lucrări practice de chimie biologică.* Iaşi, Universitatea „Al I. Cuza", 1970.
3. Artenie, V. *Practicum de biochimie generală.* Iaşi, Universitatea „Al. I. Cuza", 1981.
4. Asatiani, V. S. *Biohimiceskaia fotometria.* Moskva, Izdatelstvo Akademii Nauk S.S.S.R., 1957
5. Baslavskaia, S. S. Trubeţkova, O. M. *Praktikum po fiziologhii rastenii.* Moskva, Izdatelstvo Moskovskovo Universiteta, 1964.
6. Binet, P., Brunel, J. P. *Physiologie végétale.* T. I—III. Paris, Editions Doin, 1967—1968.
7. Boldor, O., Caloianu-Iordăchel, Maria, Raicu, P., Strungaru, Gr. *Tehnici de laborator în biologie.* Manual pentru clasa a XII-a, profilul chimie-biologie. Bucureşti, Editura Didactică şi Pedagogică, 1978.
8. Boldor, O., Trifu, M., Raianu, O. *Fiziologia plantelor.* Bucureşti, Editura Didactică şi Pedagogică, 1981.
10. Brugovitzky Edit, *Növényélettani vizsgálatok.* Bukarest, Mezőgazdasági és Erdészeti Állami Könykiadó, 1957.
10. Bukatsch, F. *Das kleine pflanzenphysiologische Praktikum.* Jena, V E B Gustav Fischer Verlag, 1980.
11. Caloianu-Iordăchel, Maria, Boldor, O., Lazăr, I., Prunescu C., Dima, Ioana, *Tehnici de laborator în biologie.* Manual pentru licee cu profil de chimie-biologie, clasa a XI-a. Bucureşti, Editura Didactică şi Pedagogică, 1981.
12. Copeland, L. O. *Principles of Seed Science and Technology.* Minneapolis, Minnesota, Burgess Publishing Company, 1976.
13. Cupcea, Emilia, Iliescu, Emilia, Boldor, O., Brugovitzky, Edit, Petrea, V. D., Popovici, N., Soare, Florica. *Lucrări practice de fiziologia plantelor.* Bucureşti, Editura Didactică şi Pedagogică, 1965.
14. Davidescu, D., Ionescu, M., Ivănescu, M., Sluşanschi, H., Pavlovschi, Gh. *Metode de analiză chimice şi fizice folosite în agricultură.* Bucureşti, Editura Academiei R.P.R., 1963.
15. Davidescu, D., Davidescu Velicia. *Chimizarea agriculturii, I. Testarea stării de fertilitate prin plantă şi sol.* Bucureşti, Editura Academiei R.S. România, 1972.
16. Dorobanţu, N., Mavromati, Elena, Dvornic, Valentina, Silli, Elena. *Îndrumător pentru lucrări practice de fiziologia plantelor.* Bucureşti, Institutul Agronomic „N. Bălcescu", 1958.
17. Dorobanţu, N., Dvornic, Valentina, Silli, Elena, Găină, Rada, Molea, Ioana, Voican, Viorica. *Lucrări practice de fiziologie vegetală.* Bucureşti, Institutul Agronomic „N. Bălcescu", 1981.

18. Duca, A., Nacu, A., Calu, Cl. *Chimie analitică şi analiza instrumentală.* Vol. III. Iaşi, Institutul Politehnic, 1980.
19. Dumitru, I. F. *Lucrări practice de biochimie.* Bucureşti, Editura Didactică şi Pedagogică, 1967.
20. Ermakov, A. I., Arasimovici, V. V., Smirnova-Ikonnikova, M. I., Iaroş, N. P., Lukovnikova G. A. *Metodi biohimiceskovo issledovania rastenii.* Leningrad, Izdatelstvo Kolos, 1972.
21. Gavrilenko, V. F., Ladîghina, M. E., Handobina, L. M. *Bolşoi praktikum po fiziologhii rastenii.* Moskva, „Vîsşaia Skola", 1975.
22. Ionescu, Gh., Aelenei, N., Tarhon, A., Mihai, E. *Lucrări practice de chimie fizică.* Iaşi, Institutul Politehnic, 1978.
23. Jurcă, V. *Lucrări practice de chimie biologică.* Iaşi, Universitatea „Al. I. Cuza", 1973.
24. Kalinin, F. L., Sarnaţkaia, V. V., Polişciuk V. E. *Metodi kulturî tkanei v fiziologhii i biohimii rastenii.* Kiev, „Naukova Dumka", 1980.
25. Kékedy, L. *Analiză fizico-chimică.* Bucureşti, Editura Didactică şi Pedagogică, 1969.
26. Klein, R. M., Klein, D. T. *Research Methods in Plant Science.* New York, The Natural History Press, Garden City, 1970.
27. Kurtz, B. E., Jr., Mellor, S. R. *Plant Physiology. Laboratory Exercises.* Minneapolis, Burgess Publishing Company, 1966.
28. Ladislau, K. *Analiză fizico-chimică.* Bucureşti, Editura Didactică şi Pedagogică, 1969.
29. Lealikov, I. S. *Metode fizico-chimice de analiză.* Bucureşti, Editura Didactică şi Pedagogică, 1963.
30. Luca, C. *pH-ul şi aplicaţiile lui.* Bucureşti, Editura Tehnică, 1958.
37. Machlis, L., Torrey, J. G. *Plants in action. A laboratory manual of Plant physiology.* San Francisco, W. H. Freeman and Company, 1956.
32. Mărgineanu, G. D., Flonta, M. L. *Lucrări practice de biofizică.* Bucureşti, Tipografia Universităţii Bucureşti, 1981.
33. Moisescu, N. *Fiziologia vegetală experimentală.* Bucureşti, Editura Institutului de Arte Grafice şi Editura „Minerva", 1907.
34. Niciporovici, A. A., Strogonova, L. E., Cimora, C. N., Vlasova, M. P. *Fotosinteticeskaia deiatelnost rastenii v posevah.* Moskva, Izdatelstvo Akademii Nauk S.S.S.R., 1961.
35. Neniţescu, C. D. *Chimie organică. Vol. I—II.* Bucureşti, Editura Didactică şi Pedagogică, 1974.
36. Obrejan, Gr. *Metode de cercetare a solului.* Bucureşti, Editura Academiei R.P.R., 1964.
37. Parascan, D., Danciu, M. *Botanica şi fiziologia plantelor — lucrări practice.* Braşov, Universitatea din Braşov, 1982.
38. Peterburgski, A. V. *Manual de lucrări practice de chimie agricolă.* Bucureşti, Editura Agro-Silvică, 1954.
39. Popescu, I., Voica, C. *Caiet de lucrări practice de fiziologia plantelor.* Bucureşti, Tipografia Universităţii Bucureşti, 1983.
40. Raianu, O. *Fiziologia plantelor.* Iaşi, Universitatea „Al. I. Cuza", 1979.
41. Ruge, U. *Praktikum po fiziologhii rosta i razvitia rastenii.* Moskva, Izdatelstvo I. L., 1955.
42. Săndulescu, N. *Agrofitotehnie. Îndrumător de lucrări practice.* Bucureşti, Tipografia Universităţii Bucureşti, 1979.
43. Skazkin, F. D., Lovcinovskaia, E. I., Miller, M. S., Anikiev, V. V. *Praktikum po fiziologhii rastenii.* Moskva, Gosudarstvenoe Izdatelstvo „Sovetskaia Nauka", 1958.

44. Szalai, I., Frenyo, V. *Növényélettani kisérletek.* Budapest, Tankönyvkiadó, 1962.
45. Šesták, Z., Catský, J., Jarvis, P. G. *Plant Photosynthetic Production. Manual of Methods.* The Haque, Dr. W. Junk N. V. Publishers, 1971.
46. Tetiurev, V. A. *Metodica experiențelor de fiziologia plantelor.* București, Editura Didactică și Pedagogică, 1953.
47. Trifu, M. *Nutriția minerală a plantelor.* Cluj-Napoca, Universitatea „Babeș-Bolyai", 1976.
48. Valter, O. A., Pinevici, L. M., Varsova, N. N. *Praktikum po fiziologhii rastenii.* 3-e izdanie. Moskva—Leningrad, Gosudarstvenoe Izdatelstvo Selskohoziaistvennaia Literatura, 1957.
49. Weaver, R. J. *Plant Growth Substances in Agriculture.* San Francisco, V. H. Freeman and Company, 1972.

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

CUPRINS

Prefață 3
1. **Regimul de apă al plantelor** (O. Raianu) 5
1.1. Determinarea cantității de apă din corpul plantelor 5
1.1.1. Determinarea umidității prin uscarea probei la 60°C 6
1.1.2. Determinarea umidității prin distilarea probei cu xilen 9
1.2. Schimburile de apă între celule și mediu 11
1.2.1. Importanța stării de mobilitate a apei în mediu și în celulă . . 11
1.2.2. Forțele ce rețin apa în celulă sau în mediu 12
1.2.2.1. Forțele osmotice 13
1.2.2.2. Forțele de imbibiție 13
1.2.2.3. Forțele de adsorbție 13
1.2.2.4. Forțele de coeziune moleculară 15
1.2.2.5. Forțele de capilaritate 17
1.2.2.6. Forțele legăturilor chimice 18
1.2.3. Factorii cu rol important în schimburile de apă dintre celule și mediu 18
1.2.3.1. Osmoza și schimburile de apă ale celulei 18
1.2.3.1.1. Osmoza prin membrane permeabile 19
1.2.3.1.1.1. Difuziunea 19
1.2.3.1.1.2. Dializa 22
1.2.3.1.1.3. „Osmometrul" Dutrôchet 23
1.2.3.1.1.4. Echilibrul Donnan 24
1.2.3.1.2. Osmoza prin membrane semipermeabile 25
1.2.3.1.2.1. Membrane semipermeabile artificiale . 25
1.2.3.1.2.2. Osmometrul Pfeffer 27
1.2.3.1.2.3. Legile osmozei 29
1.2.3.1.2.4. Consecința legilor osmozei 31
1.2.3.1.3. Caracterul osmotic al schimburilor de apă între celule și mediu 32
1.2.3.1.3.1. Substanțe osmotic active și osmotic inactive 32
1.2.3.1.3.2. Turgescența 33
1.2.3.1.3.3. Plasmoptiza 34
1.2.3.1.3.4. Plasmoliza 34
1.2.3.1.3.4.1. Influența electroliților asupra formei și timpului de plasmoliză 35
1.2.3.1.3.5. Citoriza 36
1.2.3.1.4. Caracterul neosmotic al schimburilor de apă între celule și mediu 36
1.2.3.1.4.1. Deplasmoliza 37
1.2.3.1.5. Măsurarea presiunii osmotice a sucului celular . 37
1.2.3.1.5.1. Determinarea concentrației sucului celular prin procedeul refractometric . . 37

1.2.3.1.5.2. Determinarea presiunii osmotice prin procedeul plasmolizei incipiente (după H. de Vries) 38
1.2.3.1.6. Măsurarea forței de sucțiune a celulelor vegetale 39
1.2.3.2. Imbibiția și schimburile de apă ale celulei 44
1.2.3.2.1. Măsurarea forței de sucțiune a apei datorită imbibiției 46
1.2.3.3. Electroosmoza și schimburile de apă ale celulei 47
1.3. Absorbția apei de către plante 49
1.3.1. Procedee de măsurare a absorbției apei 49
1.3.2. Localizarea absorbției apei 50
1.3.2.1. Absorbția radiculară 50
1.3.2.2. Absorbția foliară 52
1.3.2.3. Absorbția apei la epifite 53
1.3.2.4. Absorbția apei la plantele acvatice submerse 53
1.3.3. Proprietățile solului în legătură cu apa 54
1.3.3.1. Recoltarea probelor de sol pentru analiză 54
1.3.3.2. Evidențierea apei din sol 55
1.3.3.3. Evidențierea aerului din sol 55
1.3.3.4. Evidențierea ascensiunii capilare 55
1.3.3.5. Evidențierea permeabilității solului 56
1.3.3.6. Determinarea umidității solului (a substanței uscate) . . 56
1.3.3.7. Determinarea forței de sucțiune a solului pentru apă . . 57
1.3.3.8. Determinarea indicilor hidrofizici ai solurilor 59
1.3.3.8.1. Determinarea coeficientului de higroscopicitate a solurilor 59
1.3.3.8.2. Determinarea coeficientului de ofilire pe cale vegetativă (procedeul Dolgov) 61
1.3.3.8.3. Determinarea capacității minime pentru apă a solurilor 62
1.3.3.8.4. Determinarea capacității totale pentru apă a solurilor 64
1.3.3.8.5. Determinarea capacității pentru apă a solurilor în cîmp 64
1.4. Conducerea apei în corpul plantelor 66
1.4.1. Conducerea apei prin vasele de lemn 66
1.4.2. Viteza de conducere a sevei brute 69
1.4.3. Mecanismele care contribuie la ascensiunea sevei brute 69
1.4.3.1. Forța de sucțiune a frunzelor 70
1.4.3.1.1. Evidențierea deficitului de presiune din vasele de lemn ca urmare a aspirației foliare 70
1.4.3.1.2. Rolul forțelor de coeziune ale moleculelor de apă în transmiterea deficitului de presiune în vasele de lemn 72
1.4.3.2. Presiunea radiculară 73
1.5. Emisiunea apei de către plante 74
1.5.1. Transpirația 74
1.5.1.1. Evidențierea transpirației 74
1.5.1.2. Intensitatea transpirației 76
1.5.1.2.1. Determinarea directă a vaporilor de apă eliminați 76
1.5.1.2.1.1. Determinarea vaporilor de apă eliminați în atmosferă confinată 77

1.5.1.2.1.2. Determinarea vaporilor de apă eliminați în atmosferă reînoită 78
1.5.1.2.2. Determinări indirecte 80
1.5.1.2.2.1. Măsurarea scăderii masei materialului vegetal 80
1.5.1.2.2.2. Măsurarea apei absorbite 81
1.5.1.2.2.3. Determinarea mersului diurn al transpirației 81
1.5.1.3. Căile de emisiune a apei 82
1.5.1.3.1. Transpirația prin stomate 83
1.5.1.3.1.1. Evidențierea și determinarea transpirației stomatice 83
1.5.1.3.1.2. Numărarea stomatelor de pe frunze . . 85
1.5.1.3.1.3. Determinarea gradului de deschidere a stomatelor 86
1.5.1.3.2. Transpirația prin cuticulă 87
1.5.1.3.3. Transpirația prin lenticele 88
1.5.2. Gutația 89
1.5.2.1. Gutația naturală 89
1.5.2.2. Gutația artificială 89
1.6. Procedee utilizate pentru controlul stării de aprovizionare cu apă a plantelor de cultură 90

2. Nutriția minerală a plantelor (M. Trifu) 92
2.1. Compoziția chimică a plantelor 92
2.1.1. Studiul cenușii 92
2.1.1.1. Determinarea cantității de cenușă 92
2.1.1.1.1. Incinerarea simplă 93
2.1.1.1.2. Incinerarea cu adaos de acid azotic sau de apă oxigenată 94
2.1.1.2. Alcalinitatea cenușii 94
2.1.2. Evidențierea elementelor chimice din cenușă 95
2.1.2.1. Evidențierea elementelor solubile în apă 95
2.1.2.1.1. Potasiul 96
2.1.2.1.2. Sodiul 97
2.1.2.1.3. Clorul 97
2.1.2.2. Evidențierea elementelor solubile în acizi 97
2.1.2.2.1. Fierul 98
2.1.2.2.2. Magneziul 98
2.1.2.2.3. Aluminiul 98
2.1.2.2.4. Calciul 99
2.1.2.2.5. Carbonații 99
2.1.2.2.6. Sulfații 100
2.1.2.2.7. Manganul 100
2.1.2.2.8. Fosforul 100
2.1.3. Evidențierea elementelor chimice din corpul plantelor, pe cale histochimică 101
2.1.4. Alte procedee de evidențiere a unor elemente chimice din corpul plantelor 102
2.1.4.1. Azotul nitric 103
2.1.4.2. Azotul nitros 104
2.1.4.3. Azotul amoniacal 104
2.1.4.4. Azotul amidic 105

2.1.5. Procedee cantitative pentru determinarea unor elemente minerale absolut necesare, existente în corpul plantelor 105
2.1.5.1. Determinarea azotului total prin procedeul Kjeldahl . . 105
2.1.5.2. Determinarea cantitativă a fosforului prin formarea complexului de fosfomolibdat de culoare galbenă 109
2.1.5.3. Determinarea volumetrică a potasiului total 109
2.2. Solul 111
2.2.1. Prelevarea probelor parțiale și alcătuirea probelor medii de sol . 112
2.2.2. Pregătirea probelor de sol pentru analiză 112
2.2.3. Reacția solului 113
2.2.3.1. Determinarea *p*H-ului solului cu indicator universal . . 113
2.2.3.2. Determinarea *p*H-ului solului cu salicilat de sodiu . . . 113
2.2.3.3. Determinarea *p*H-ului solului cu ajutorul hîrtiei indicator universal 114
2.2.4. Determinarea gradului de saturație cu baze a solului 114
2.2.5. Evidențierea elementelor chimice din sol 116
2.3. Absorbția sărurilor minerale de către plante 117
2.3.1. Evidențierea absorbției ionilor de către plante 117
2.3.2. Absorbția sărurilor minerale insolubile de către plante prin sistemul radicular 118
2.3.2.1. Evidențierea secreției de acizi organici de către rădăcinile plantelor 118
2.3.2.2. Evidențierea fenomenului de coroziune 119
2.4. Conducerea ionilor și distribuția lor în corpul plantelor 119
2.5. Tehnici de cultivare a plantelor în condiții de laborator 119
2.5.1. Tehnica cultivării plantelor superioare pe soluții minerale nutritive 120
2.5.2. Tehnica de cultivare a plantelor superioare în vase de vegetație pe nisip 127
2.5.3. Tehnica de cultivare a algelor verzi unicelulare în condiții de laborator 130
2.6. Stabilirea efectelor de carență în azot, fosfor și potasiu asupra plantelor 133
2.7. Studiul influenței îngrășămintelor cu azot, fosfor și potasiu asupra plantelor crescute pe pămînt de grădină 136
2.8. Studiul influenței compoziției mediilor de cultură asupra creșterii algelor verzi unicelulare 138
2.9. Diagnoza foliară 141
2.9.1. Testarea colorimetrică a sucului obținut prin presarea vaselor conducătoare și a țesuturilor plantelor 142

3. Fotosinteza (O. Boldor) 145

3.1. Evidențierea fotosintezei 145
3.1.1. Evidențierea necesității prezenței pigmenților asimilatori pentru desfășurarea procesului de fotosinteză 145
3.1.2. Demonstrarea necesității prezenței luminii pentru desfășurarea fotosintezei 147
3.1.3. Demonstrarea necesității prezenței dioxidului de carbon pentru desfășurarea fotosintezei 150
3.1.4. Evidențierea producerii de oxigen în timpul desfășurării fotosintezei 149
3.2. Studiul pigmenților asimilatori 151
3.2.1. Extragerea pigmenților asimilatori 151

3.2.2. Proprietățile pigmenților asimilatori 152
3.2.3. Separarea pigmenților asimilatori 153
3.2.3.1. Separarea pigmenților asimilatori cu ajutorul solvenților organici 153
3.2.3.2. Separarea pigmenților asimilatori prin cromatografie pe hîrtie 155
3.2.4. Determinarea cantitativă a pigmenților asimilatori 156
3.2.4.1. Determinarea pigmenților clorofilieni prin procedee colorimetrice 156
3.2.4.1.1. Determinarea colorimetrică a pigmenților clorofilieni cu ajutorul comparatorului 156
3.2.4.1.2. Determinarea cantității de pigmenți clorofilieni cu ajutorul colorimetrului Dubosq 159
3.2.4.1.3. Determinarea cantității de pigmenți clorofilieni cu ajutorul fotoelectrocolorimetrului 160
3.2.4.2. Dozarea pigmenților asimilatori pe cale spectrofotometrică 160
3.3. Influența factorilor externi asupra fotosintezei 161
3.3.1. Influența intensității luminii asupra fotosintezei 162
3.3.2. Influența compoziției spectrale a luminii asupra fotosintezei . . 163
3.3.3. Influența concentrației dioxidului de carbon asupra intensității fotosintezei 166
3.3.4. Influența temperaturii asupra intensității fotosintezei 166
3.4. Intensitatea fotosintezei 167
3.4.1. Procedee de determinare a intensității fotosintezei 167
3.4.1.1. Procedee bazate pe determinarea cantității de dioxid de carbon absorbit 168
3.4.1.2. Procedee bazate pe determinarea cantității de oxigen degajat 171
3.4.1.2.1. Determinarea intensității fotosintezei la plantele superioare submerse, după cantitatea de oxigen solvit în apă 171
3.4.1.2.2. Procedeul volumetric (Audus) 176
3.4.1.2.3. Procedeul manometric (Warburg) 177
3.4.1.3. Procedeul gravimetric 183
4. Translocația substanțelor organice în plante (O. Raianu) 185
4.1. Migrația asimilatelor din frunze 185
4.2. Căile de conducere a sevei elaborate 186
4.2.1. Conducerea sevei elaborate prin nervuri 186
4.2.2. Conducerea sevei elaborate prin tulpini 187
4.2.2.1. Experimente de decorticare inelară 187
4.2.2.2. Decorticarea scalariformă 189
4.3. Mecanismul conducerii sevei elaborate 190
4.3.1. Ipoteza transportului sub presiune a sevei elaborate 191

5. Respirația plantelor (O. Raianu) 193

5.1. Manifestările exterioare ale respirației 193
5.1.1. Evidențierea schimbului de gaze caracteristic respirației . . . 193
5.1.2. Evidențierea diminuării masei uscate a plantelor în timpul respirației 199
5.1.3. Evidențierea degajării de căldură în timpul respirației 201
5.1.4. Evidențierea producerii de energie electrică în respirație . . . 203
5.2. Intensitatea respirației 204
5.2.1. Procedee de determinare a intensității respirației 204

5.2.1.1. Procedee bazate pe determinarea cantității de dioxid de carbon produs 204
5.2.1.2. Procedee bazate pe determinarea cantității de oxigen consumat 212
5.2.1.3. Procedee bazate pe determinarea cantității de substanțe organice consumate 214
5.2.2. Variațiile intensității respirației 214
5.2.2.1. Variații în funcție de natura și vîrsta organelor 215
5.2.2.2. Variații în funcție de natura substratului 215
5.2.2.2.1. Determinarea cîtului respirator la semințele cu rezervă amidonoasă 216
5.2.2.2.2. Determinarea cîtului respirator la semințele cu rezervă oleaginoasă 217
5.3. Enzime de respirație 217
5.3.1. Evidențierea dehidrogenazelor anaerobe (reductaze) 217
5.3.2. Evidențierea dehidrogenazelor aerobe (oxidaze) 218
5.3.3. Evidențierea oxidazelor „directe" 220
5.3.3.1. Evidențierea peroxidazei 220
5.3.3.2. Evidențierea catalazei 220
5.3.3.3. Evidențierea catecoloxidazei 221
5.3.4. Determinarea activității unor enzime care participă în etapele terminale ale oxidării biologice 222
5.3.4.1. Determinarea activității catalazei 222
5.3.4.2. Determinarea activității peroxidazei 223

6. **Fermentațiile** (O. Raianu) 224

6.1. Fermentațiile la microorganisme 224
6.1.1. Fermentația alcoolică 224
6.1.2. Fermentația butirică 225
6.1.3. Fermentația acetică 226
6.2. Fermentațiile la plantele superioare 226
6.2.1. Evidențierea schimburilor de gaze din cursul fermentației la plantele superioare 227
6.2.2. Evidențierea fermentației la semințe 227

7. **Creșterea plantelor** (M. Trifu) 229

7.1. Germinația semințelor 229
7.1.1. Determinarea facultății și energiei germinative 229
7.1.2. Determinarea vitalității semințelor 232
7.1.2.1. Proba cu TTC (clorura de trifenil tetrazoliu) 233
7.1.2.2. Determinarea vitalității semințelor cu ajutorul coloranților 234
7.1.3. Evidențierea factorilor externi necesari germinației 234
7.1.3.1. Evidențierea necesității prezenței în mediu a apei, aerului și a unei temperaturi convenabile pentru germinația semințelor 234
7.1.3.2. Demonstrarea necesității oxigenului în procesul de germinație 235
7.1.3.3. Stabilirea temperaturii minime, optime și maxime de germinare a semințelor 236
7.1.3.4. Influența luminii asupra germinării semințelor 236
7.1.4. Influența factorilor interni asupra germinației 238
7.1.4.1. Influența gradului de postmaturație asupra germinației semințelor 238

7.1.4.2. Influența impermeabilității tegumentului seminal asupra germinației 238
7.1.4.3. Substanțe inhibitoare ale germinării 239
7.1.4.4. Influența integrității semințelor asupra germinației . . . 241
7.1.5. Procedee de stimulare a germinării semințelor 242
7.1.5.1. Stimularea germinării prin tratamente cu aldehidă acetică 242
7.1.5.2. Stimularea germinării prin tratamente cu acid sulfuric 243
7.1.5.3. Stimularea germinării prin tratarea semințelor cu căldură 243
7.1.5.4. Stimularea germinării prin tratarea semințelor cu temperaturi scăzute 244
7.2. Creșterea plantelor 245
7.2.1. Stabilirea poziției zonelor de creștere a organelor vegetative ale plantelor 245
7.2.1.1. Stabilirea zonei de creștere la rădăcini 245
7.2.1.2. Stabilirea zonei de creștere la tulpinile nearticulate . . . 247
7.2.1.3. Stabilirea zonei de creștere la tulpinile articulate 248
7.2.1.4. Stabilirea zonelor de creștere la frunze 248
7.2.1.5. Stabilirea zonei de creștere a pețiolurilor 249
7.2.2. Evidențierea dinamicii procesului de creștere 249
7.2.3. Procedee de măsurare a intensității creșterii 250
7.2.3.1. Determinarea intensității creșterii organismelor unicelulare după numărul de celule din unitatea de volum de suspensie 251
7.2.3.2. Determinarea intensității creșterii organismelor unicelulare prin măsurarea dimensiunilor lor 253
7.2.3.3. Determinarea intensității creșterii organismelor prin măsurarea volumului lor în fracțiuni identice de suspensie prelevate din mediul de cultură 254
7.2.3.4. Determinarea intensității creșterii organismelor unicelulare prin măsurarea sporului de substanță uscată 255
7.2.3.5. Determinarea intensității creșterii organelor plantelor prin măsurători cu rigla sau șublerul 255
7.2.3.6. Determinarea intensității creșterii organelor plantelor prin măsurarea volumului lor 255
7.2.3.7. Determinarea intensității creșterii suprafeței frunzelor . . 256
7.2.3.8. Determinarea intensității creșterii organelor plantelor după sporul de masă proaspătă 257
7.2.3.9. Determinarea intensității creșterii organelor plantelor după sporul de substanță uscată 257
7.2.3.10. Determinarea intensității creșterii plantelor cu ajutorul microscopului orizontal 258
7.2.3.11. Determinarea intensității creșterii tulpinii plantelor cu ajutorul auxanometrelor 259
7.2.4. Substanțele de creștere 260
7.2.4.1. Acțiunea auxinei asupra rizogenezei 261
7.2.4.2. Acțiunea auxinei asupra creșterii tulpinii 261
7.2.4.3. Consecința decapitării la tulpină și rădăcină 261
7.2.4.4. Acțiunea 2,4 D asupra mono și dicotiledonatelor 262
7.2.5. Regenerarea plantelor 262
7.2.5.1. Regenerarea la rădăcini 262
7.2.5.2. Regenerarea la tulpini și ramuri 262
7.2.5.3. Regenerarea la frunze 263
7.2.6. Polaritatea 263
7.2.6.1. Polaritatea la ramuri 263

7.2.6.2. Polaritatea la rădăcini 264
7.2.7. Evidenţierea fenomenelor de corelaţie 264
7.2.8. Influenţa luminii asupra creşterii 265

8. **Dezvoltarea plantelor** (O. Boldor) 267

8.1 Evidenţierea rolului temperaturii asupra dezvoltării plantelor 267
8.2. Evidenţierea rolului luminii asupra dezvoltării plantelor 268

9. **Mişcările plantelor** (O. Boldor) 269

9.1. Mişcările intracelulare 269
9.2. Mişcările autonome ale organelor plantelor 270
9.2.1. Evidenţierea nutaţiilor efemere 270
9.2.2. Evidenţierea nutaţiilor periodice 271
9.3. Mişcările induse ale organelor plantelor 272
9.3.1. Tropismele 272
9.3.1.1. Fototropismul 272
9.3.1.2. Geotropismul 274
9.3.1.3. Chemotropismul 276
9.3.1.4. Hidrotropismul 276
9.3.2. Nastiile 277
9.3.2.1. Termonastiile 277
9.3.2.2. Fotonastiile 277
9.3.2.3. Nictinastiile 277
9.3.2.4. Seismonastiile 278

10. **Procedee fizico-chimice de analiză** O. Boldor, M. Trifu, O. Raianu) 281

10.1. Determinarea *p*H-ului 281
10.2. Determinarea concentraţiei soluţiilor pe cale refractometrică 284
10.3. Procedee colorimetrice 285
10.3.1. Colorimetrul Dubosq 286
10.3.2. Colorimetrul fotoelectric FEK-M 287
10.4. Tehnici spectrofotometrice 290
10.4.1. Spectrofotometrul Spekol 10 290
10.4.2. Spectrofotometrul Specord UV-VIS 292
10.5. Procedee manometrice 293
10.5.1. Instalaţia Warburg 293

Anexă: reţetele de preparare a reactivilor 299

Bibliografie selectivă 312

Coli de tipar: 20,25. Format: 16/70×100.
Bun de tipar: 6. XII. 1983. Nr. plan: 9508.
Ediția: 1983.

Tiparul executat sub comanda nr. 357/1983.
la Întreprinderea Poligrafică „Crișana",
Oradea, str. Moscovei nr. 5.
Republica Socialistă România

BCUIASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

7.2.6.2. Polaritatea la rădăcini 264
7.2.7. Evidențierea fenomenelor de corelație 264
7.2.8. Influența luminii asupra creșterii 265

8. Dezvoltarea plantelor (O. Boldor) 267

8.1. Evidențierea rolului temperaturii asupra dezvoltării plantelor 267
8.2. Evidențierea rolului luminii asupra dezvoltării plantelor 268

9. Mișcările plantelor (O. Boldor) 269

9.1. Mișcările intracelulare 269
9.2. Mișcările autonome ale organelor plantelor 270
9.2.1. Evidențierea nutațiilor efemere 270
9.2.2. Evidențierea nutațiilor periodice 271
9.3. Mișcările induse ale organelor plantelor 272
9.3.1. Tropismele 272
9.3.1.1. Fototropismul 272
9.3.1.2. Geotropismul 274
9.3.1.3. Chemotropismul 276
9.3.1.4. Hidrotropismul 276
9.3.2. Nastiile 277
9.3.2.1. Termonastiile 277
9.3.2.2. Fotonastiile 277
9.3.2.3. Nictinastiile 277
9.3.2.4. Seismonastiile 278

10. Procedee Calcu-rezultate de analiză (O. Boldor, M. Trifu, O. Reianu) 281

10.1. Determinarea pH-ului 282
10.2. Determinarea concentrației soluțiilor pe cale refractometrică 284
10.3. Procedee colorimetrice 285
10.3.1. Colorimetrul Duboșq 286
10.3.2. Colorimetrul fotoelectric FEK-M 287
10.4. Tehnici spectrofotometrice 290
10.4.1. Spectrofotometrul Spekol 10 290
10.4.2. Spectrofotometrul Specord UV-VIS 292
10.5. Procedee manometrice 293
10.5.1. Instalația Warburg 293

Anexă: rețetele de preparare a reactivilor 299

Bibliografie selectivă 312

Colt de tipar: 20,25. Format: 16/70×100.
Bun de tipar: 6. XII. 1983. Nr. plan: 9508.
Ediția: 1983.

Tiparul executat sub comanda nr. 357/1983.
la Întreprinderea Poligrafică „Crișana",
Oradea, str. Moscovei nr. 5.
Republica Socialistă România

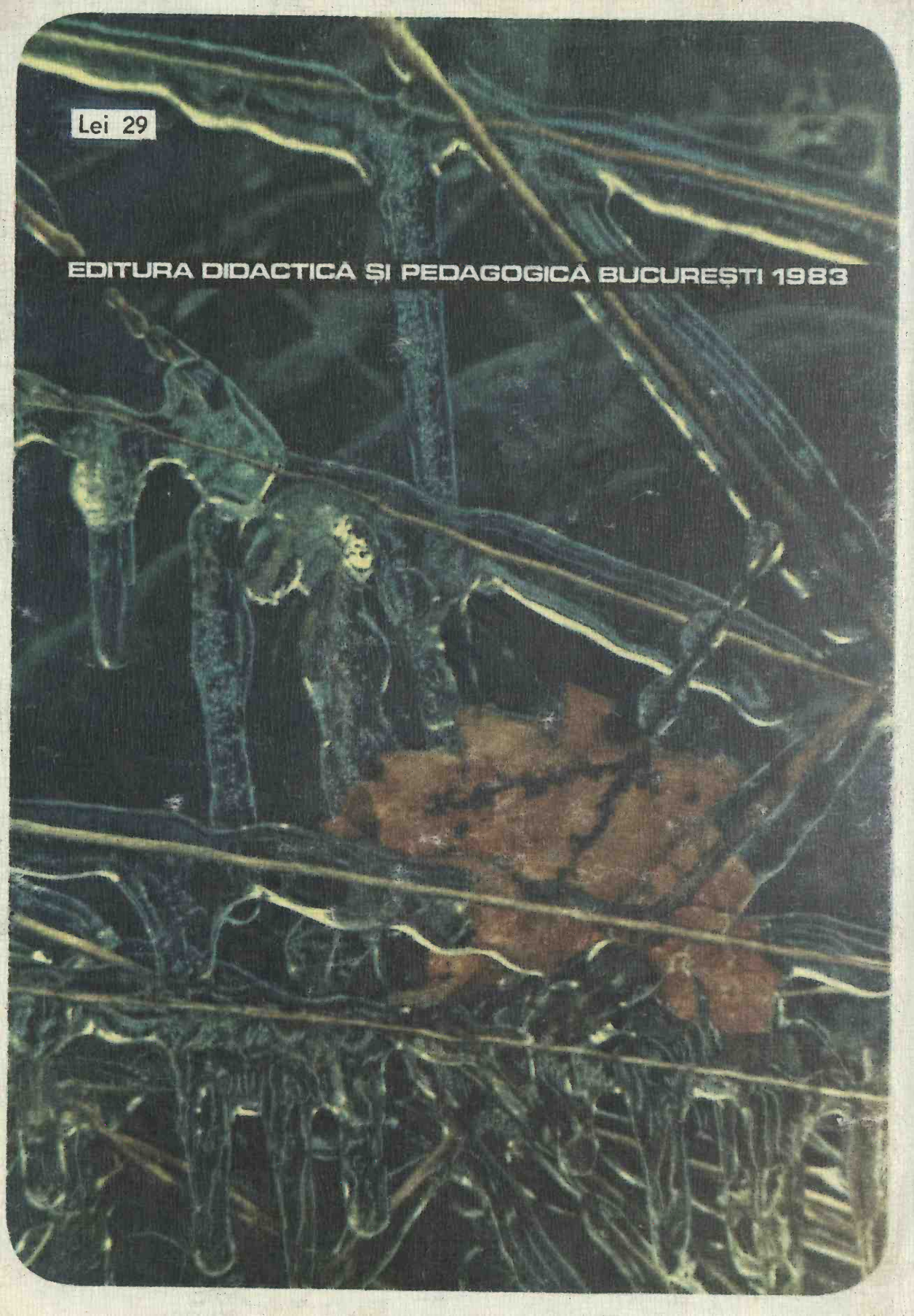
4539 DEP. LEGAL 1983

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

BCUIASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

SCUIASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

BCUIASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY


Lei 29
EDITURA DIDACTICA ȘI PEDAGOGICĂ BUCUREȘTI 1983